JULIANA PLÁCIDO GUIMARÃES

# Análise morfológica da superfície de interface epitélio - tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (ordem Cetacea subordem Odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura

SÃO PAULO

2006

# Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

JULIANA PLÁCIDO GUIMARÃES

# Análise morfológica da superfície de interface epitélio -tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (ordem Cetacea subordem Odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção de título de Mestre em Ciências

**Departamento:**

Cirurgia

**Área de Concentração:**

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

**Orientador:**

Prof. Dr. Ii-Sei Watanabe

SÃO PAULO

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1647
FMVZ

Guimarães, Juliana Plácido

Análise morfológica da superfície de interface epitélio –tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (ordem Cetacea subordem Odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura / Juliana Plácido Guimarães -- São Paulo: J. P. Guimarães, 2006.

94 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Ii-Sei Watanabe.

1. Língua. 2. Tecido conjuntivo. 3. Microscopia eletrônica de varredura. 4. Morfometria. 5. Cetacea. I. Título.

*UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO*
***Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia***
*Assistência Acadêmica*

# *PARECER*

Interessado: Juliana Plácido Guimarães

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 719/2005, intitulado: "Análise morfológica da superfície dorsal e da interface epitélio - tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (ordem cetácea subordem odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura", utilizando 08 cetáceos (boto e toninha), sob responsabilidade do Prof. Dr. li-Sei-Watanabe (ICB), constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 23 de agosto de 2005

Profa. Dra. Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - 05508-270 - Cidade Universitária. "Armando de Salles Oliveira"
Fax: (011) 3032-2224 Fone: (011) 3091-7671 -3091-7676 e-mail: fmvz@edu.usp.br

# FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GUIMARÃES, Juliana Plácido

Título: Análise morfológica da superfície de interface epitélio - tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (ordem Cetacea subordem Odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura

Dissertação apresentada ao Programa de Pós – graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção de título de Mestre em Ciências

Data:____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento:_____

*Aos meus pais, Claudemiro e Sueli, pelo imenso amor e carinho que me permitiram chagar até aqui. Muito obrigado por estarem sempre ao meu lado, me apoiando em todas as minhas decisões.*

*Vocês são pessoas especais e um exemplo de luta e amor.*

*Amo Muito Vocês !!*

*À minha irmã, Priscila, pelo carinho em todos esses anos. Gostaria de te agradecer pela amizade e dizer o quanto você é importante e fundamental para mim.*

*Te Amo.*

# AGRADECIMENTOS

Especialmente ao Prof. Dr. Ii-Sei Watanabe, meu orientador, pela sua confiança e sua imensa colaboração estando sempre disposto a me ajudar, transmitindo-me todos os seus conhecimentos.

À Profa. Dra. Maria Angélica Miglino, pela oportunidade e apoio concedido na realização desta tese.

Ao Profº Dr. Francisco J. H. Blasquez, pela ajuda na descrição das figuras de histologia. Obrigada!

Ao Sr. Sebastião Aparecido Boleta e Sras. Marta Maria da Silva Righetti e Sônia Regina Yokomizo, técnicos do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas e aos Srs. Ronaldo Agostinho da Silva e Edinaldo Ribas Farias do Departamento de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Maicon Barbosa da Silva e Jaqueline Martins Santana.

À Carolina Bertozzi, Juliana Marigo, Fernando C. W. Rosa, Márcia R. de Oliveira pela gentil doação do material para a realização deste trabalho.

Ás minhas amigas Karina Martinez Gagliardo, Renata de Bitto Mari e Naianne Kelly Clebis pela amizade, carinho e a cima de tudo pela paciência e ajuda nessa fase importante da minha vida profissional. À vocês muito obrigado.

À minha grande amiga Maria Fernanda Gonçalves pela amizade, atenção e respeito.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, em especial a Priscila B. Teixeira Moraes, Janaina Muera Monteiro, Fernanda Rodrigues Agreste, Rosemary Viola Bosh, Ana Paula Vidotti, Carla Fabiana Casagrande, Dulcinéia Teixeira, Haley Silva de Carvalho, Arlei José Birck e Issac Albuquerque.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

*“O desenvolvimento dos golfinhos é sem dúvida algo fascinante e ainda misterioso o que o faz mais encantador, essa ânsia de buscarmos o conhecimento desses animais não se detém somente aos nossos anseios acadêmicos mais também a nossa curiosidade de aprender cada vez mais com esses seres que acreditamos serem tão especiais”.*

# RESUMO

GUIMARÃES, J. P. **Análise morfológica da superfície de interface epitélio - tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (Ordem Cetacea subordem Odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura.** [Morphologic analysis of the interface epithelium-connective tissue surface of the dorsal face of the cetaceans tongue (order cetacea sub-order odontoceti), using light and scanning electron microscopic methods]. 2006. 94 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

A ordem Cetacea compreende golfinhos e baleias, mamíferos totalmente adaptados ao ambiente aquático. A língua de duas espécies de cetáceos, *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia fluviatilis,* foram utilizadas para descrição da morfologia das papilas linguais e da superfície de interface epitélio-tecido conjuntivo da lâmina própria, empregando as técnicas de microscopia de luz e eletrônica de varredura. As línguas foram fixadas e divididas em três porções: rostral, médio e caudal e processadas conforme os protocolos das técnicas utilizadas. A língua da *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia fluviatilis* estava revestida por um epitélio estratificado queratinizado, sendo possível observar as camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea. Pode-se notar que na língua, o tecido conjuntivo denso apresentava vasos sanguíneos e profundamente relacionado com o tecido muscular. A superfície de interface epitélio-tecido conjuntivo da lâmina própria apresentou papilas conjuntivas de várias formas. Elas correspondem às papilas filiformes e valadas, mostrando feixes de fibras colágenas em disposição original. Na microscopia de luz polarizada revelou-se fibras colágenas do tipo I e III. No terço médio e caudal de ambas as espécies foram encontradas ácinos de glândulas salivares. As amostras tratadas com solução de hidróxido de sódio, tiveram a camada epitelial removida, e as papilas conjuntivas foram observadas em aspecto tridimensional. Foi

possível observar que a superfície dorsal de ambas as espécies é totalmente recoberta por papilas conjuntivas de aspecto filiforme. Observa-se também a presença dos forames dos ductos das glândulas salivares nas porções média e caudal da língua, sendo eles mais numerosos nos filhotes. Morfometricamente, as papilas conjuntivas apresentaram maior comprimento na espécie *Sotalia fluviatilis* do que na *Pontoporia blainville.* Foi observado somente na espécie *Pontoporia blainvillei* estruturas conjuntivas arredondadas na região média e caudal. Embora as áreas dessas estruturas tenham sido maiores na região caudal que na média, estatisticamente estes resultados não foram significativos (P>0,05).

Palavras-chave: Língua. Tecido conjuntivo. Microscopia eletrônica de varredura. Morfometria. Cetácea.

# ABSTRACT

GUIMARÃES, J. P. **Morphologic analysis of the interface epithelium-connective tissue surface of the dorsal face of the cetaceans tongue (order cetacea sub-order odontoceti), using the light and scanning electron microscopic methods.** [Análise morfológica da superfície de interface epitélio -tecido conjuntivo da face dorsal da língua de cetáceos (Ordem Cetacea subordem Odontoceti), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura]. 2006. 94 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

The Cetacea order comprises dolphins and whales, mammals totally adapted to the aquatic ambient. The tongue of two cetaceans species, *Pontoporia* blainvillei and *Sotalia fluviatilis*, was studied for description of the morphology of the lingual papillae and of interface epithelium the connective tissue surface, using the light and scanning electron microscopic techniques. The tongues were fixed and divided in three portions: rostral, medium and caudal and treated according to the protocols of techniques used. The tongues of the *Pontoporia blainvillei* and *Sotalia fluviatilis* were covered by keratinized stratified epithelium, being that is possible to verify the basal, spinosa, granular and cornetiel ayers. In the tongue the dense connective tissue of lamina propria showed blood vessels and muscular layer was deeply related. The interface epithelium-connective tissue surface of the lamina propria presented connective tissue papillae which are various in shape. They correspond to the filiform and vallate papillae showing the collagen fibers bunches in original disposition. In the polarized light microscopy revealed collagen fibers type I and III. In the medium and caudal third of both species various groupins of salivary gland acini. The samples treated with sodium hydroxide solution, the epithelial layer was removed and the connective tissue papillae were

observed in three-dimensional SEM images. It was possible to observe that the dorsal surface of the both species is totally covered by connective tissue papillae of filiform aspect. We observed also the presence of the ducts of the salivary glands in the media and caudal portions of the tongue, being them more numerous in pups. Morphometric analysis showed that the connective tissue papillae presented larger length in the *Sotalia fluviatilis* than in the *Pontoporia blainville* samples. The round connectives structures in the media and caudal portions were observed only the *Pontoporia blainvillei* species. Although, the areas of those structures have been major in the caudal region than media, and these results were not signifficant (P>0,05) .

Key words: Tongue. Connective tissue. Scanning electron microscopic. Morphometric analysis. Cetacea.

# SUMÁRIO

**1 INTRODUÇÃO**..... 16

**2 REVISÃO DA LITERATURA**..... 20

**3 MATERIAL E MÉTODO**..... 30

3.1 MATERIAL..... 31

3.2 MÉTODOS..... 31

**3.2.1 Técnicas Histológicas**..... 32

**3.2.2 Técnicas para Microscopia Eletrônica de Varredura**..... 32

**3.2.3 Análise Morfométrica**..... 33

**3.2.4 Análise Estatística**..... 34

**4 RESULTADOS**..... 35

4.1 MICROSCOPIA DE LUZ..... 36

**4.1.1 *Sotalia fluviatilis* - Filhote** ..... 37

**4.1.2 *Sotalia fluviatilis* – Adulto**..... 43

**4.1.3 *Pontoporia blainvillei* – Filhote**..... 48

**4.1.4 *Pontoporia blainvillei* – Adulto**..... 53

4.2 MICROSCOPÍA ELETRONICA DE VARREDURA..... 58

**4.2.1 *Sotalia fluviatilis* - Filhote** ..... 59

**4.2.2 *Sotalia fluviatilis* – Adulto**..... 62

**4.2.3 *Pontoporia blainvillei* – Filhote**..... 66

**4.2.4 *Pontoporia blainvillei* – Adulto**..... 69

4.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA..... 73

**4.3.1** ***Sotalia fluviatilis*** ..... 73

**4.3.2** ***Pontoporia blainvillei***..... 74

**5 DISCUSÃO**..... 78

**6 CONCLUSÕES**..... 86

**REFERÊNCIAS**..... 88

# *INTRODUÇÃO*

# 1 INTRODUÇÃO

Os mamíferos aquáticos dentro da escala zoológica se originaram de um ou mais mamíferos terrestres, apesar de ainda existirem controvérsias. Os cetáceos, em especial, estão relacionados evolutivamente com os mamíferos ungulados, como os eqüinos e os ruminantes (BARNES; DOMNING; RAY, 1985; BERTA; SUMICH, 1999; GINGERICH et al., 2001).

A ordem Cetacea compreende golfinhos e baleias. Estes animais são mamíferos totalmente aquáticos com adaptações ao ambiente, como a redução de pêlos, corpo fusiforme, órgãos genitais e glândulas mamárias internas, orifício respiratório situado no topo da cabeça e os membros torácicos transformados em nadadeiras peitorais (CUENCA, 2000; FOWLER; CUBAS, 2001JEFFERSON; LEATHERWOOD; WEBBER, 1993;).

De acordo com Jefferson, Leatherwood e Webber (1993) esta ordem é dividida em duas subordens:

- Subordem *Mysticeti:* inclui as baleias “verdadeiras” que possuem barbatanas no lugar de dentes e dois orifícios respiratórios e podem atingir entre seis e 32 metros de comprimento na idade adulta como, por exemplo, a baleia–azul (*Balaenoptera musculus*), baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) e baleia-minke (*Balaenoptera acutorostrata*).
- Subordem *Odontoceti:* contendo o maior número de espécies, inclui os cetáceos com dentes. Possuem um orifício respiratório e podem atingir entre um e 18 metros

de comprimento na idade adulta, como é observado em cachalote (*Physeter macrocephalus*), orca (*Orcinus orca*) e golfinhos.

A *Pontoporia blainvillei* é um pequeno cetáceo endêmico encontrado na costa do Atlântico Sul Ocidental, desde Itaúnas, no Estado do Espírito Santo, até limite austral da costa do golfo San Matías, na Argentina. Os machos medem aproximadamente 1,57 m e pesam cerca de 32 kg, sendo que as fêmeas possuem 1,72 m e 40 kg. A gestação é de 11 meses e os filhotes nascem no meio de outubro e janeiro. Esses filhotes são pequenos medindo entre 45 a 50 cm de comprimento e pesando aproximadamente entre seis e sete quilogramas. Alimentam-se de lulas, polvos, peixes e crustáceos, como tem sido relatado por Tinker (1988) e Beneditto e Ramos (2001).

A *Sotalia fluviatilis* é tipicamente sul americana e também ocorre em parte da América Central, nos rios Amazonas e Orinoco, Brasil, e em outros rios da Venezuela e oeste do Panamá. É um golfinho pequeno medindo 1,7 m e pesando entre 30 a 40 kg, atingindo o seu peso máximo, na primavera, de 50 kg. Os filhotes nascem entre os meses de fevereiro e março, são quase pretos no dorso e rosa no ventre, mas com o passar do tempo adquirem coloração mais clara. Alimentam-se de peixes, lagostas e caranguejos (BENEDITTO; RAMOS, 2001; TINKER, 1988).

A sensação de gosto em mamíferos foi historicamente descrita com quatro sensos nomeados, ácido, doce, salgado e amargo e são enviados para o sistema nervoso central através do nervo glossofaríngeo que supre a língua, faringe e áreas relacionadas (TINKER, 1988).

Em geral, a mucosa dorsal da língua apresenta-se altamente diferenciada, contendo papilas filiformes, fungiformes, valadas e folhadas. Entretanto podem ocorrer diferenças na forma e tamanho em alguns animais (MORAIS; WATANABE, 1990).

Segundo Yamasaki, Komatsu e Kamiya (1978) uma das maiores características das línguas dos cetáceos é a ausência da papila lingual. Por essa característica e pela controvérsia a respeito do assunto há a necessidade de uma melhor elucidação da constituição morfológica da língua dos cetáceos, sendo esta a proposta deste estudo.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar os aspectos morfológicos da superfície de interface epitélio – tecido conjuntivo da face dorsal da língua de duas espécies de cetáceos da subordem Odontoceti: *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia fluviatilis*, verificando a morfologia das papilas linguais e do tecido conjuntivo, empregando as técnicas de microscopia de luz e eletrônica de varredura. Estes dados poderiam auxiliar para melhor entendimento dos aspectos morfofuncionais, visto que nesta espécie animal a literatura é escassa e ainda controvérsia.

# *REVISÃO DA LITERATURA*

# 2 REVISÃO DA LITERATURA

A língua ocupa a maior parte da cavidade oral e se estende na parte oral da faringe. Possui uma raiz, um corpo fixo e um ápice livre, é constituída de músculos capazes de movimentos vigorosos e precisos – como na preensão, no enrolamento, na higiene e na manipulação do alimento na boca. (DYCE; SACK; WENSING, 1997)

A língua é formada por uma massa de tecido muscular estriado esquelético, recoberto por uma mucosa cuja estrutura varia conforme a região. A superfície ventral apresenta-se lisa, com epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, lâmina própria delgada e intimamente justaposta à musculatura. Na superfície dorsal, seu aspecto é irregular, devido à presença de grande número de papilas linguais (DU TOIT, 2003; FISH; MALONE; RICHTER, 1944; GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998;).

As papilas linguais são elevações da mucosa que diferem em tamanho, forma, número, distribuição, função e apresentam variações na diferentes espécies. (BANKS, 1992).

As papilas filiformes, que se apresentam cônicas e alongadas, são as mais freqüentes, cobrindo toda a superfície dorsal da língua e não contém botões gustativos. As papilas fungiformes apresentam base mais estreita e ápice dilatado, assumindo assim, o aspecto de cogumelo podendo apresentar botões gustativos (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

As papilas valadas são as maiores e são circundadas por um sulco profundo e apresentam numerosos botões gustativos nas suas paredes laterais (WATANABE,

1980; WATANABE et al., 1992). As papilas folhadas, encontradas nas margens laterais, são estruturas em forma de folhas, separadas entre si por uma invaginação da membrana mucosa e apresentam também botões gustativos (BANKS, 1992).

Mikkonen e Sorvari (1985) descreveram as papilas linguais no homem, referindo-se a existência de papilas filiformes na superfície dorsal apresentando variações em diferentes regiões. Sua forma é constituída de duas partes, corpo e extremidade, sendo que o corpo possui base cônica de onde emergem de seis a 12 finas projeções. As papilas fungiformes são redondas, podendo ser divididas em duas partes: uma superior lisa, que contém poros gustativos e outra inferior, a base, cuja parede apresenta uma descamação epitelial mais acentuada e que em alguns casos apresentam finas projeções na margem. As papilas folhadas se caracterizam pela disposição paralela de pequenas pregas laterais da mucosa lingual. As papilas valadas situam-se logo à frente do sulco terminal, se parecem com cilindros curtos com uma vala profunda ao redor e estão dispostas em um V invertido.

As papilas linguais de fetos humanos natimortos com 12, 16, 18 e 22 semanas foram descritas por Morais e Watanabe (1990). Os fetos de 12 semanas apresentavam formações globosas, as quais se diferenciavam posteriormente em papilas fungiformes e formações correspondentes às papilas valadas no terço posterior. Na 16$^{a}$ semana, as papilas fungiformes, as valadas com aspectos mais diferenciados e as filiformes estavam presentes. Na margem lateral posterior da língua ocorria sulcos e pregas de mucosa dispostas transversalmente. Na 18$^{a}$ semana, as papilas fungiformes apresentavam a superfície ligeiramente convexa e as papilas valadas bem desenvolvidas contendo poros gustativos. Os sulcos e pregas de mucosa da margem lingual tornavam-se evidentes, constituindo as papilas folhadas. Na 22$^{a}$ semana, as

papilas fungiformes apresentavam-se mais desenvolvidas (maiores) que nas fases anteriores e as filiformes ocorriam em grande número. Papilas valadas com formas definidas, bem como as folhadas na margem lateral da língua, foram observadas pelos autores.

Na face dorsal da mucosa lingual do macaco-prego (*Cebus apella*) Watanabe et al. (1988) observaram a presença de numerosas papilas fungiformes, dispostas irregularmente, sendo rodeadas de papilas filiformes. Formações contendo os botões gustativos encontrados na porção lateral da língua apresentaram características semelhantes às das papilas fungiformes, todavia, os poros gustativos eram em maior número.

As características da superfície dorsal da língua do macaco esquilo e da *Macaca fuscata* foram relatadas por Iwasaki, Miyata e Kobayashi (1988) e Iwasaki, Yoshizawa e Suzuki (1992). Em ambas as espécies, as papilas filiformes possuíam forma circular com projeções ao redor de um centro livre e as papilas fungiformes encontravam-se presentes entre as filiformes. As papilas valadas diferiam em número, sendo quatro na *Macaca fuscata* e única no macaco esquilo.

Kobayashi, Miyata e Iino (1987) verificaram a estrutura tridimensional das papilas linguais de cães recém-nascidos, relatando a presença de papilas fungiforme de forma ovóide e após a corrosão com HCl evidenciaram as papilas conjuntivas sendo uma pequena protrusão elíptica em forma de ferradura aberta. Em maiores aumentos, observaram os feixes de fibras colágenas com várias espessuras na superfície das papilas conjuntivas formando complexas redes entre fibras vizinhas.

As papilas gustativas de dois mamíferos domésticos (*Equus cabalus* e *Bos taurus*) foram comparadas por Chamorro et al. (1986). A papila fungiforme nos bovinos

apresentou aparência típica sendo protegida por papilas filiformes, enquanto que nos eqüinos elas não emergiram para a superfície da língua. Nos eqüinos as papilas valadas eram quatro vezes maiores que nos bovinos. Já as papilas folhadas estavam presentes apenas nos eqüinos. Cabello et al. (1988) compararam as papilas mecânicas das mesmas espécies e observaram que as papilas filiformes nos eqüinos eram finas, pequenas e entrelaçadas, enquanto que nos bovinos elas se apresentavam mais robustas e ordenadas, havendo ainda nos bovinos a presença de papilas lenticulares e cônicas.

No estudo da língua de cabras em microscopia eletrônica de varredura, foram encontradas cinco formas diferentes de papilas: filiformes, fungiformes, valadas, cônicas e lenticulares. Botões gustativos foram encontrados abaixo do epitélio da papila valada (KUMAR; KUMAR; SINGH, 1998).

Na mucosa lingual de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) Silva (1999), observou papilas filiformes de forma afilada que podiam ser achadas por toda a superfície dorsal. As papilas fungiformes encontravam-se na região anterior da língua e possuíam superfície redonda e irregular. Um par de papilas folhadas estava presente na região látero-posterior da língua possuindo forma oval e projeções paralelas. Também um par de papilas valadas estava presente na região posterior e cada uma possuía uma depressão ao redor do centro.

Qayyum, Fatani e Mohajir (1988) estudando a papila lingual de dromedário (*Camelus dromedarius*) observaram a presença de quatro tipos de papilas: filiformes, a de tipo especial, fungiformes e circunvaladas. Nas duas últimas papilas foram encontrados poros gustativos. As papilas fungiformes estavam rodeadas por robustas papilas filiformes e também podiam ser observadas na superfície ventral da

extremidade. As papilas circunvaladas encontravam-se rodeadas por um sulco e uma almofada. Já Erdunchaolu et al. (2001) observando a morfologia dorsal da língua do camelo (*Camelus bactrianus*), relataram que histologicamente as papilas linguais podiam ser classificadas em filiforme, lenticulares, fungiformes e valadas, sendo que as duas primeiras possuíam função mecânica (ou mastigatória) e as restantes, devido à existência de botões gustativos, possuíam função gustativa. Microscopicamente, a língua apresentava-se recoberta por um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado.

Na superfície dorsal da língua do rinoceronte preto (*Diceros bicornis*) foram encontradas aproximadamente 60 papilas valadas em ambos os lados. As papilas filiformes estão distribuídas em toda a superfície dorsal da língua e as papilas fungiformes são arredondadas e distribuídas em maior quantidade no ápice da língua (EMURA et al., 2000).

Estudando a língua do Antílope Cervicapra (Antílope negro), Emura et al. (1999) relataram à presença de aproximadamente 30 papilas valadas em ambos os lados da parte média e caudal da língua. As papilas filiformes estavam distribuídas em toda a superfície dorsal da língua, excluindo o tôrus lingual onde ocorriam papilas cônicas. As papilas fungiformes encontravam-se densamente distribuídas na ponta e na superfície ventral do ápice da língua.

A morfologia da papila lingual dos filhotes de pantera (*Panthera pardus*) e urso preto asiático (*Selenarctos thibetanus*), apresentou papilas filiformes, fungiformes e valadas. As papilas filiformes foram encontradas em toda a superfície dorsal e as papilas valadas estavam rodeadas por um sulco e localizadas em ambos os lados da região posterior (EMURA et al., 2001).

Morais e Watanabe (1988) relataram as papilas linguais do tatu peba (*Euphractus Sexcinctus*) e Morais (1993) a mucosa do tatu galinha (*Dasypus novemcinctus*). Em ambas as espécies foram observadas as papilas filiformes, fungiformes e valadas, sendo que a papila folhada foi verificada somente na primeira espécie.

Iwasaki, Miyata e Kobayashi (1987) comparando a superfície dorsal da língua de três espécies de mamíferos (esquilo, musaranho e rato) observaram a distribuição e forma das papilas filiformes, sendo que à forma no esquilo e no musaranho se modificava gradualmente da extremidade para o corpo da língua apresentando microvilosidades na superfície epitelial, o que não ocorriam nos ratos.

A língua da lontra marinha (*Enhydra lutris*) é revestida por epitélio pavimentoso estratificado e três tipos de papilas (filiformes, fungiformes e circunvaladas) estão presentes na superfície da língua, porém a papila folhada está ausente. Botões gustativos foram encontrados nas papilas circunvaladas e fungiformes (SHIMODA et al., 1996).

Yoshimura, Shindoh e Kobayashi (2002) estudando a língua do leão marinho da Califórnia (*Zalophus californianus californianus*) observaram no epitélio numerosos corpúsculos gustativos distribuídos no topo da papila valada e no epitélio da papila fungiforme. O arranjo do tecido conjuntivo das papilas filiformes estava constituído por uma protrusão principal (ou primária) e várias protusões menores (ou secundárias). Os autores relataram que as características morfológicas da língua do leão marinho da Califórnia parece ter sido adaptada ao ambiente aquático e seus hábitos alimentares, entretanto, possuíam algumas estruturas semelhantes aos mamíferos terrestres.

A superfície dorsal da língua do peixe-boi da Flórida (*Trichechus manatus latirostris*) é coberta por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado. Numerosas papilas fungiformes e filiformes revestem a maior parte do dorso da língua. Na região rostral a papila filiforme se encontra longa e larga e na região caudal ela se apresenta pequena e mais cônica. A papila folhada é observada na margem caudo-dorsal direita e esquerda sendo que somente nessa papila são encontrados botões gustativos. A maioria das glândulas salivares encontradas é do tipo mucosa, embora algumas glândulas seromucosas sejam encontradas na região da papila folhada (LEVIN; PFEIFFER, 2002).

Pfeiffer et al. (2001) estudando a ultraestrutura lingual da baleia piloto (*Globicephala melas*), observaram em microscopia de luz que a superfície dorsal da língua é composta por epitélio pavimentoso estratificado e na microscopia eletrônica de varredura relataram que a língua é aparentemente lisa, não sendo observado papilas linguais.

No estudo da língua da *Platanista gangetica* (Golginho do Rio Ganges) e de outros cetáceos realizados por Arvy e Pilleri (1970), foram encontradas diferenças morfológicas nas várias espécies. As espécies *Delphinus delphis* (Golfinho Comum), *Phocoena phocoena* (Boto do Porto), *Delphinapterus leucas* (Beluga) e *Cephalorhynchus eutropia* (Golfinho chileno) possuiam papilas gustativas, que eram aparentemente, ausentes nas línguas de *Lagenorhynchus albirostris* (Golfinho de bico branco), *Tursiops truncatus* (Golfinho-Flíper-Comum) e *Platanista gangetica*, porém, poucos atores têm investigado a língua de cetáceos.

Segundo Arvy e Pilleri (1972) as línguas das espécies *Pontoporia* (Toninha), *Neomeris* e *Delphins* possuem diferenças em tamanho e aparência, mas nenhuma

possui papilas. Ridgway (1972) relatou que a língua dos odontocetos era pequena e robusta com uma extremidade que se move livremente, sendo as baleias consideradas, geralmente, com pouco ou nenhum senso gustativo. Outros pesquisadores não encontraram botões gustativos em *Tursiops truncatus* (Golfinho-Flíper-Comum), sendo que a língua apresentou um aspecto aveludado e ausência de papilas. Em golfinhos *Orcaella brevirostris* (Golfinho do Rio Irrawaddy) e na *Platanista gangetica* tem sido relatada papilas.

Yamasaki e Satomi (1976) no estudo da língua *da Pontoporia blainvillei* (Toninha) notaram a ausência de botões gustativos nas papilas linguais. Pequenos poros foram encontrados em grande quantidade no dorso da região média da língua e também podiam ser visto na superfície livre caudo-lateral da parte frontal e caudal. Esses poros são os orifícios dos canais excretores das glândulas salivares.

Yamasaki, Komatsu e Kamiya (1978) relataram projeções papilares ao longo da margem ântero-lateral da língua nos estágios fetal e jovem de golfinho *Stenella coeruleoalba* (Golfinho Listado). O aparecimento dessas projeções ocorre no período pré-natal completando o desenvolvimento no período pós-natal, sendo que o período de vida adulto verifica-se o desaparecimento das projeções.

Nas baleias de dentes (*Odontoceti*) a percepção gustativa ainda não foi esclarecida totalmente. Acredita-se que a sensação gustativa rudimentar pode permanecer em alguns sulcos e papilas na base da língua. O nervo glossofaríngeo nesses animais é pequeno e pouco desenvolvido. Nas baleias de barbatanas (*Mysticeti*) há evidências da presença de receptores gustativos próximos à extremidade do rostro, embora a sensação de gosto não seja completamente conhecida. O nervo glossofaríngeo destas baleias é relativamente menor que o encontrado nas baleias de

dentes, por este motivo, se aceita que as baleias de barbatanas têm menor percepção de gosto do que as baleias de dentes (TINKER, 1988).

Na espécie *Tursiops truncatus* (Golfinho-Flíper-Comum) e *Phocoena phocoena* a presença de papilas marginais estão relacionadas com a idade e seu desaparecimento ocorre por volta dos 16 anos de idade nos *Tursiops truncatus* e por volta dos seis anos de idade nos *Cephalorhynchus commersonii,* permanecendo remanescentes em sulcos linguais. O achado histológico do epitélio de várias camadas e alto nível de multiplicação celular sugere que a papila tem uma função dupla, sendo ela no lactente de grande importância na sucção e a outra na alimentação quando os animais já ingerem peixes, impedindo que a água retorne para a cavidade (KASTELEIN; DUBBELDAM, 1990).

# *MATERIAL E MÉTODO*

# 3 MATERIAL E MÉTODO

Abaixo serão descritos os materiais e métodos utilizados neste trabalho.

## 3.1 MATERIAL

Foram utilizadas oito línguas de duas espécies de cetáceos: *Pontoporia blainvilei* (Toninha) e *Sotália fluviatilis* (Boto cinza), sendo quatro línguas de cada espécie. Esses materiais foram provenientes de animais encalhados na região do Paraná e São Paulo e doados pelos pesquisadores Juliana Marigo, Fernando C.W. Rosa e Márcia de Oliveira do Instituto de Pesquisa Cananéia (IpeC) e pela bióloga Carolina Bertozzi responsável pelo Projeto Biopesca (Praia Grande – SP).

Este trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Protocolo n° 719/2005).

## 3.2 MÉTODOS

A metodologia deste trabalho foi dividida em: técnicas histológicas, técnicas de microscopia eletrônica de varredura, análise morfométrica e análise estatística.

### 3.2.1 Técnicas Histológicas

Após a fixação em solução de formalina a 10%, as amostras foram lavadas em água corrente e desidratadas em série crescente de álcoois, até o álcool absoluto. Em seguida, os espécimes foram incluídos em paraplast. Posteriormente, as peças foram cortadas com espessura de seis micrometros e coradas pelas técnicas da Hematoxilina-Eosina (H-E), Azo-Carmim e Picro-sírius. Com a coloração de Hematoxilina-Eosina permite a visualização de núcleos celulares e tecido conjuntivo. O método de Azo-Carmim permite a identificação de tecido conjuntivo corado em azul. A técnica de Picro-sírius quando observadas sob a luz polarizada permite a identificação das fibras colágenas (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BUTANI, 1979).

Após a coloração do material pelas diferentes técnicas, as lâminas obtidas foram examinadas no fotomicroscópio ZEISS MC 80 DX do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

### 3.2.2 Técnicas para Microscopia Eletrônica de Varredura

Após a fixação do material em solução de Karnovsky modificada, contendo 2,5% de glutaraldeído, 2% de paraformaldeído em solução tampão fosfato de sódio a 0,1M e pH 7,4. As línguas foram lavadas em água destilada e seccionadas em três partes: rostral, médio e caudal.

As peças foram tratadas em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 10%, durante 4 a 6 dias à temperatura ambiente para a remoção da camada epitelial do tecido conjuntivo conforme a técnica descrita por Ohtani (1987). Em seguida, as línguas foram lavadas em água destilada e pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio a 1% por 2 horas a 4ºC. A desidratação foi realizada em série crescente de álcoois nas concentrações de 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% e álcool absoluto. O material foi imerso durante 15 minutos em cada concentração de álcoois, sendo este processo repetido por quatro vezes na última concentração (álcool absoluto). Posteriormente, as peças foram submetidas ao ponto crítico em aparelho Balzers CPD-030 utilizando $CO_2$ líquido. Em seguida, às amostras foram montadas em bases metálicas e cobertas com ouro no aparelho Ions Sputter Balzers SDC – 040 do Departamento de Anatomia do ICB-USP e examinadas ao microscópio eletrônico de varredura JEOL – JSM 6100 do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

### 3.2.3 Análise Morfométrica

As análises morfométricas das papilas conjuntivas filiformes e as estruturas conjuntivas arredondadas foram realizadas através das imagens obtidas da microscopia eletrônica de varredura.

As papilas conjuntivas do tipo filiformes do terço rostral, médio e caudal tiveram seu comprimento (μm) mensurado da base ao ápice. Para tanto foram selecionados 5

imagens de cada terço da língua e destas foram mensuradas apenas as papilas que se encontravam intactas, cuja o ápice e a base eram visíveis.

Foram mensuradas também a área ($\mu m^2$) de todas as estruturas conjuntivas arredondadas observadas nas imagens do terço médio e caudal da espécie *Pontoporia blainvillei*.

### 3.2.4 Análise Estatística

Os dados referentes à morfometria foram analisados com o software GraphPad Prism 4 e posteriormente analisados por meio do teste de t de Student com $P<0,05$.

Os dados foram expressos em média $\pm$ erro padrão.

# *RESULTADOS*

# 4 RESULTADOS

Os resultados obtidos serão apresentados na seguinte ordem: microscopia de luz, eletrônica de varredura e análise morfométrica.

## 4.1 MICROSCOPIA DE LUZ

A língua da *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia fluviatilis* estava revestida por um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, sendo possível observar as camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea.

Pode-se notar o tecido conjuntivo denso contendo vasos sanguíneos e inferiormente, relaciona-se intimamente com o tecido muscular. Além disso, no terço médio e caudal de ambas as espécies foram encontradas glândulas salivares revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo, de onde partem septos que as dividem em lobos.

### 4.1.1 *Sotalia fluviatilis* (Boto Cinza) – Filhote

Na figura 1A observa-se o aspecto geral da região rostral, onde se verificou que na superfície dorsal, a camada epitelial é lisa sem a presença de papilas linguais. Foi possível observar as camadas epiteliais que eram: camada basal, espinhosa, granulosa e córnea (Figura 2A).

Papilas conjuntivas dessa região são altas e afiladas que se estendem até meia altura do epitélio, estão distribuídas irregularmente na lâmina própria do tecido conjuntivo e estas se apresentaram coradas em azul pelo método de Azo-Carmim (Figura 1B e C).

Através do método de Picro-sírius observou-se as papilas coradas em vermelho (Figura 2B) e quando analisadas sob luz polarizada (Figura 2C) foi possível identificar fibras colágenas do tipo I e III.

O terço médio da língua apresentou um epitélio irregular (Figuras 3A e B) e papilas conjuntivas afiladas mais numerosas, porém de diferentes tamanhos (Figura 3C). Nas figuras 4A e 4B foram observados o epitélio, tecido conjuntivo e glândulas salivares onde foi possível notar fibras colágenas do tipo I e III.

O epitélio se apresenta mais delgado e menos queratinizado no terço caudal da língua e apresentam projeções em forma de espinhos, papilas filiformes (Figura 5C). O eixo das papilas conjuntivas é forrada por tecido conjuntivo frouxo que apresentou-se irregular (Figura 5D). Notou-se também a presença de papila valada (Figura 6A) e em maior aumento (Figura 6B) observou-se a ausência de botões gustativos em suas laterais e dorso.

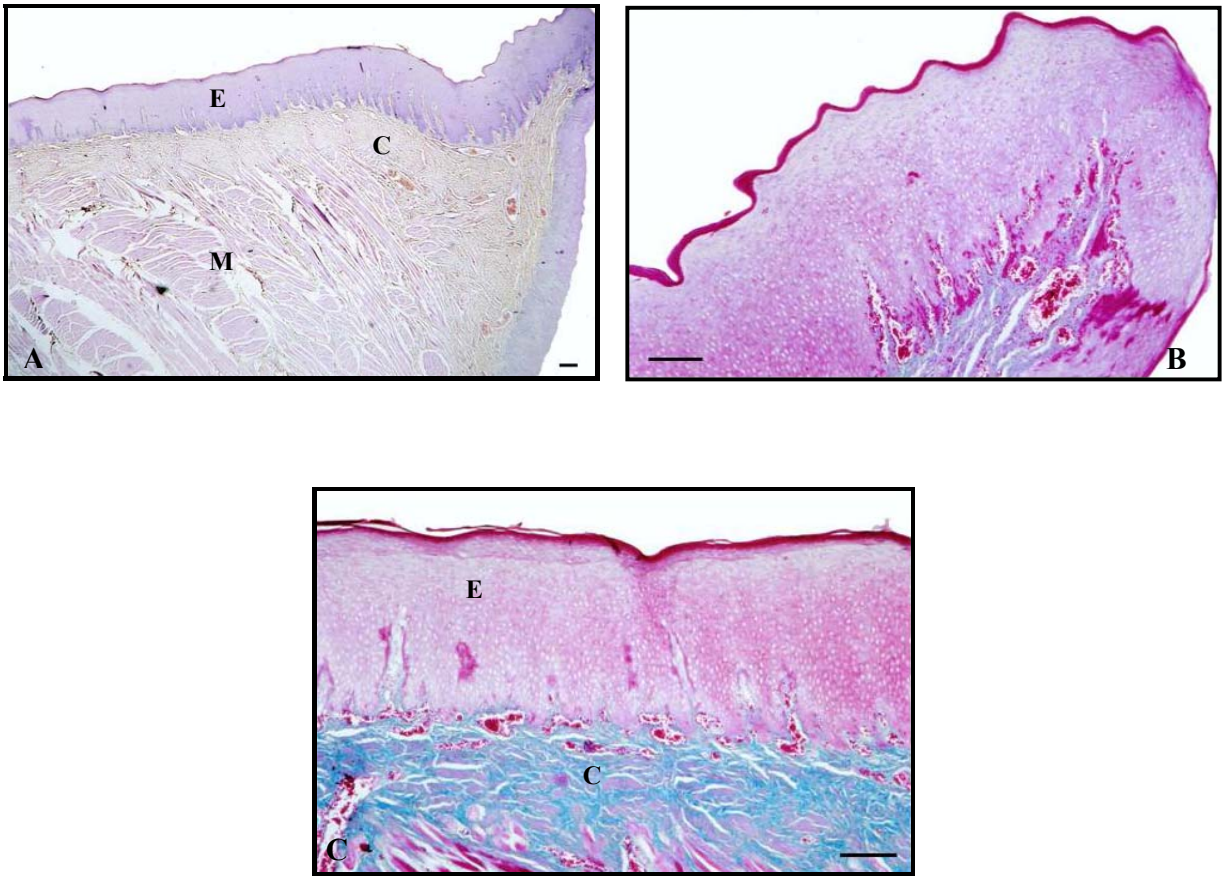


Figura 1- Fotomicrografia do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Mostra o aspecto geral da superfície dorsal, evidenciando epitélio (E), tecido conjuntivo (C) e camada muscular (M). Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Evidenciando em maior aumento a papila marginal. Azo-Carmim. 100X. C: Aspecto geral da superfície dorsal, evidenciando corado em rosa o epitélio (E) e em azul a camada de tecido conjuntivo (C). Azo-Carmim. 100X

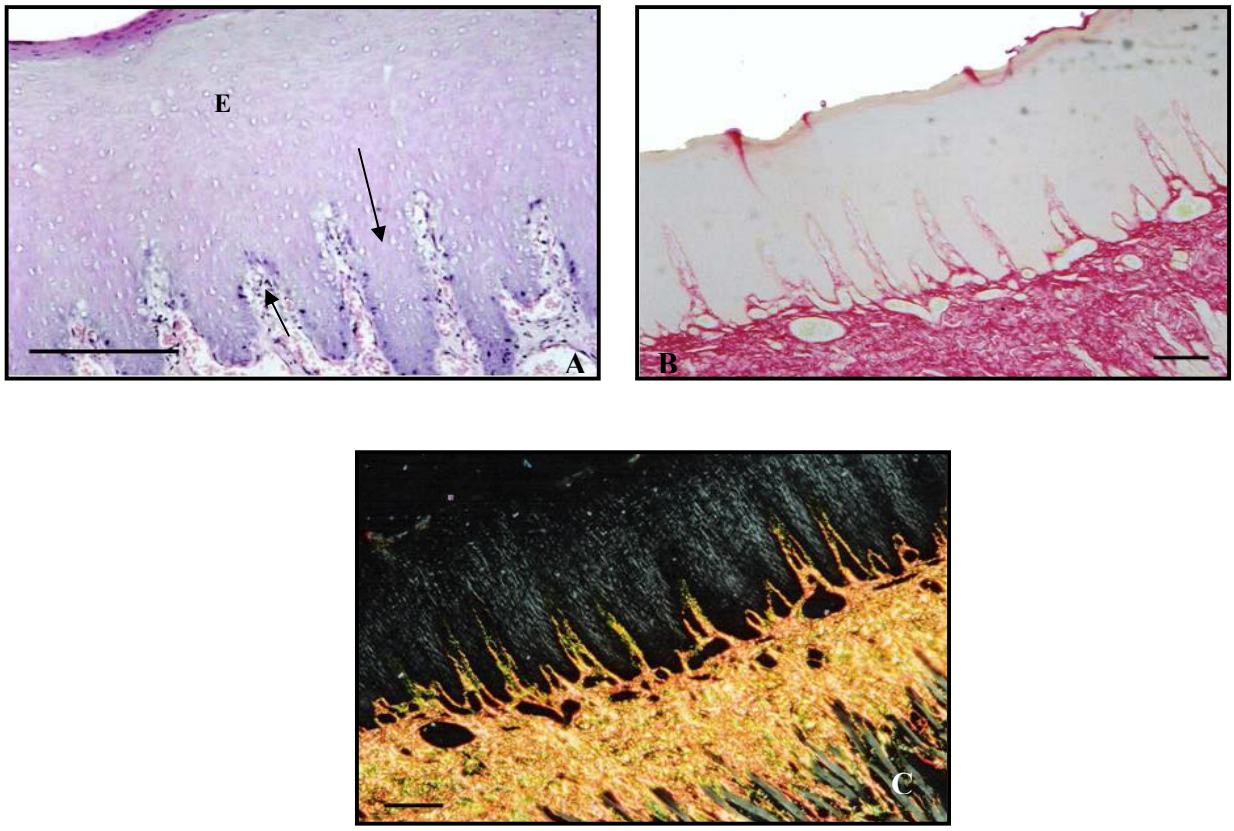


Figura 2 - Fotomicrografia do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Mostra o epitélio (E), suas papilas epiteliais (seta maior) e as papilas conjuntivas (setas menores). Hematoxilina-Eosina. 200X. B: Observar o tecido conjuntivo corado em vermelho e as papilas conjuntivas Picro-Sírus. 100X. C: Mostra sob luz polarizada a predominância de fibras colágenas do tipo I (amarelo e laranja) e tipo III (verde). Picro-Sírus. 100X

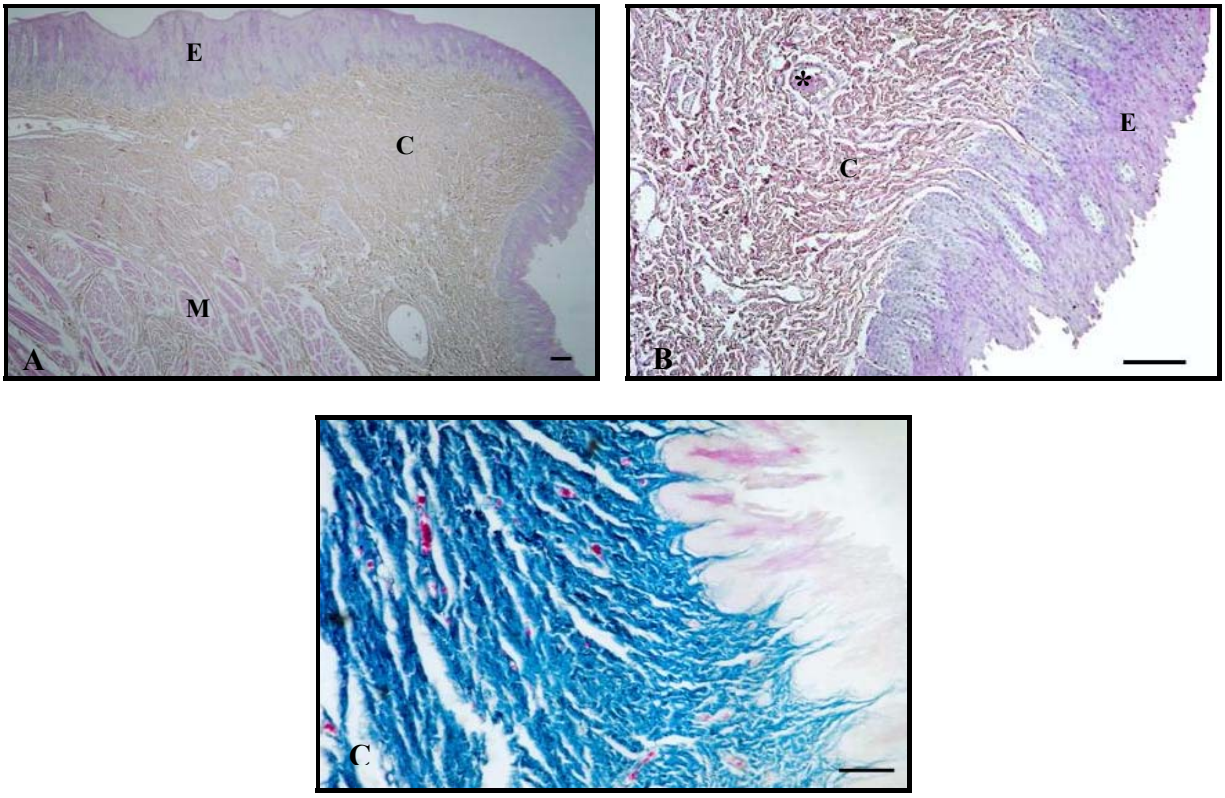


Figura 3 - Fotomicrografia do terço média da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Mostra o aspecto geral da superfície dorsal, evidenciando epitélio (E), tecido conjuntivo (C) e camada muscular (M). Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Nota-se o epitélio irregular (E) e uma espessa camada de tecido conjuntivo (C), com presença de capilar (∗). Hematoxilina-Eosina. 100X. C: Nota-se corado em azul o tecido conjuntivo evidenciando a distribuição das papilas conjuntivas. Azo-Carmim. 100X

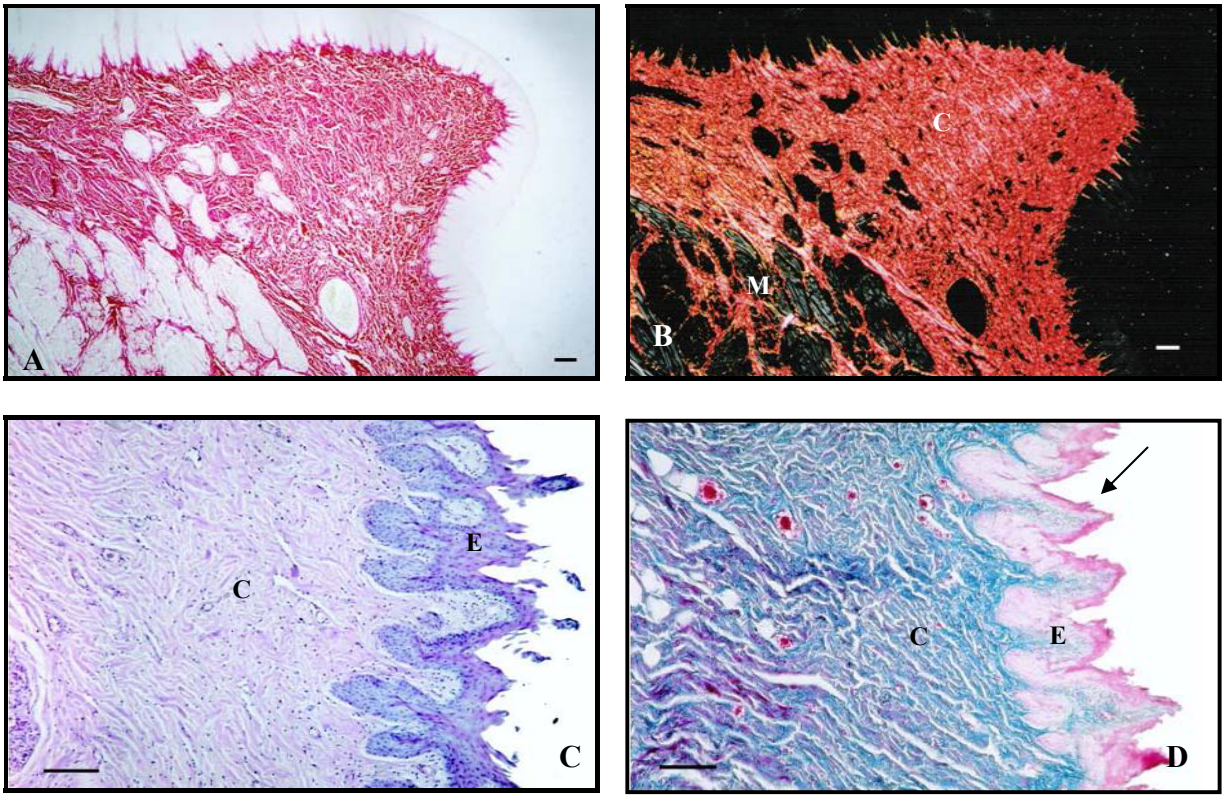


Figura 4 - Fotomicrografia do terço médio da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Nota-se corado vermelho uma espessa camada de tecido conjuntivo. Picro-sírius. 25X. B: Nota-se sob luz polarizada a lâmina própria de tecido conjuntivo (C) adentrando a camada muscular (M) mostrando a presença de fibras colágenas do tipo I e III. Picro-Sírus. 25X

Figura 5 - Fotomicrografia do terço caudal da *Sotalia fluviatilis* – filhote. C: Epitélio delgado (E), com presença de papilas filiformes e uma espessa camada de tecido conjuntivo (C). Hematoxilina-Eosina. 100X. D: Epitélio delgado (E), com uma fina camada de queratina (seta) e presença de papilas filiformes e uma espessa camada de tecido conjuntivo (C). Azo-Carmim. 100X

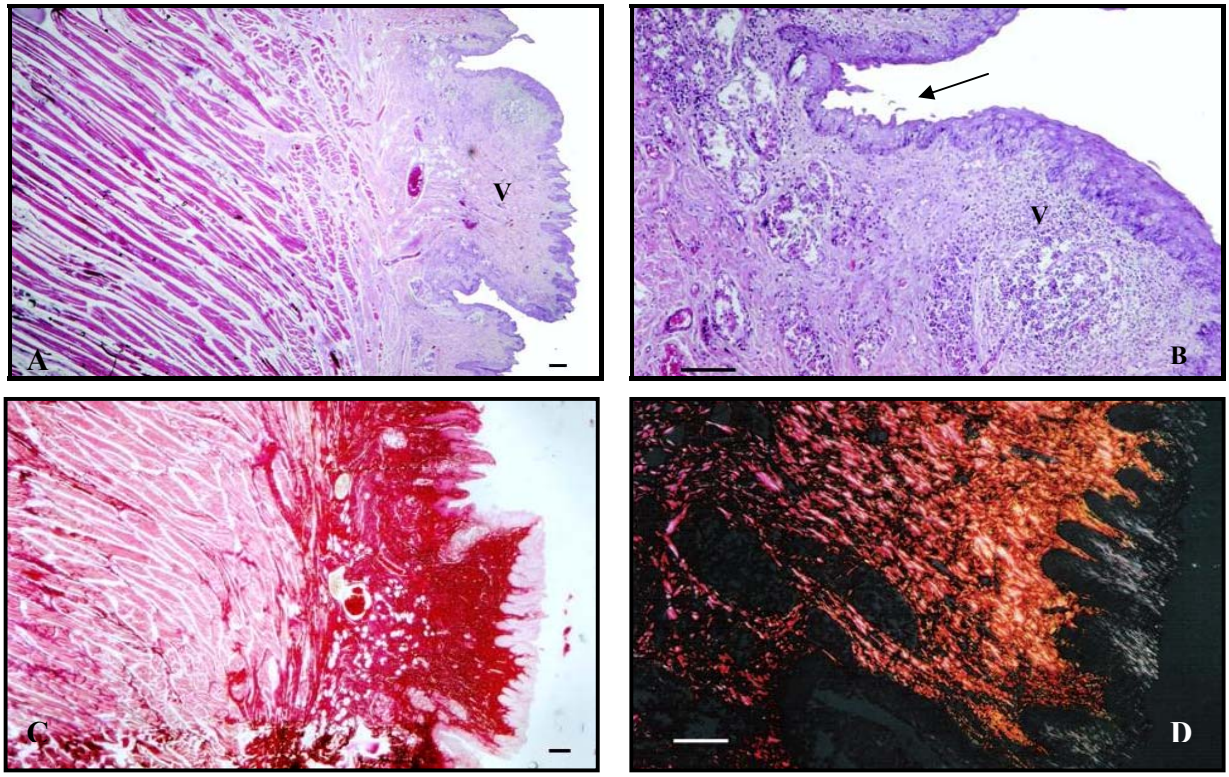


Figura 6 - Fotomicrografia do terço caudal da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Presença de papila valada (V) com sulcos laterais. Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Papila valada (V) em maior aumento evidenciando seu sulco lateral (seta), com ausência de botões gustativos. Hematoxilina-Eosina. 100X. C: Disposição do tecido conjuntivo na papila valada. Picro-sírius. 25X. D: Sob luz polarizada, evidenciou-se a presença de fibras colágenas do tipo I e III na papila valada. Picro-sírius. 100X

### 4.1.2 *Sotalia fluviatilis* (Boto Cinza) – Adulto

Podemos observar na figura 7A o aspecto geral da região rostral, onde nota-se a presença de papila marginal (Figura 7B). A superfície de interface epitélio-tecido conjuntivo apresentou projeções conjuntivas alongadas que se encontram próxima à superfície da língua e tamanhos variados (Figuras 7 C e D). Foi identificado fibras colágenas do tipo I e III, sendo que o tipo III é mais predominante (Figura 8 A e B)

O epitélio na região média se encontra menos delgado (Figura 9A). As papilas conjuntivas apresentam-se de várias formas e tamanhos. Estas formas podem ser alongadas, largas, baixas, estreitas e algumas bifurcadas (Figura 9B). Essas papilas revelaram densa distribuição fibras colágenas do tipo I e III (Figuras 10A e B).

Na região caudal o epitélio se encontra mais delgado e pouco queratinizado. Notou-se a presença de papilas filiformes, por toda a extensão desta região. (Figuras 11C e 12A). Foi observado na região média e caudal a presença de uma grande quantidade de glândulas salivares e seus ductos. (Figura 11D)

Na figura 12B observamos, em vermelho, o tecido conjuntivo corado por Picro-sírius e na figura 12C sob a luz polarizada a distribuição de colágenos do tipo I e III.

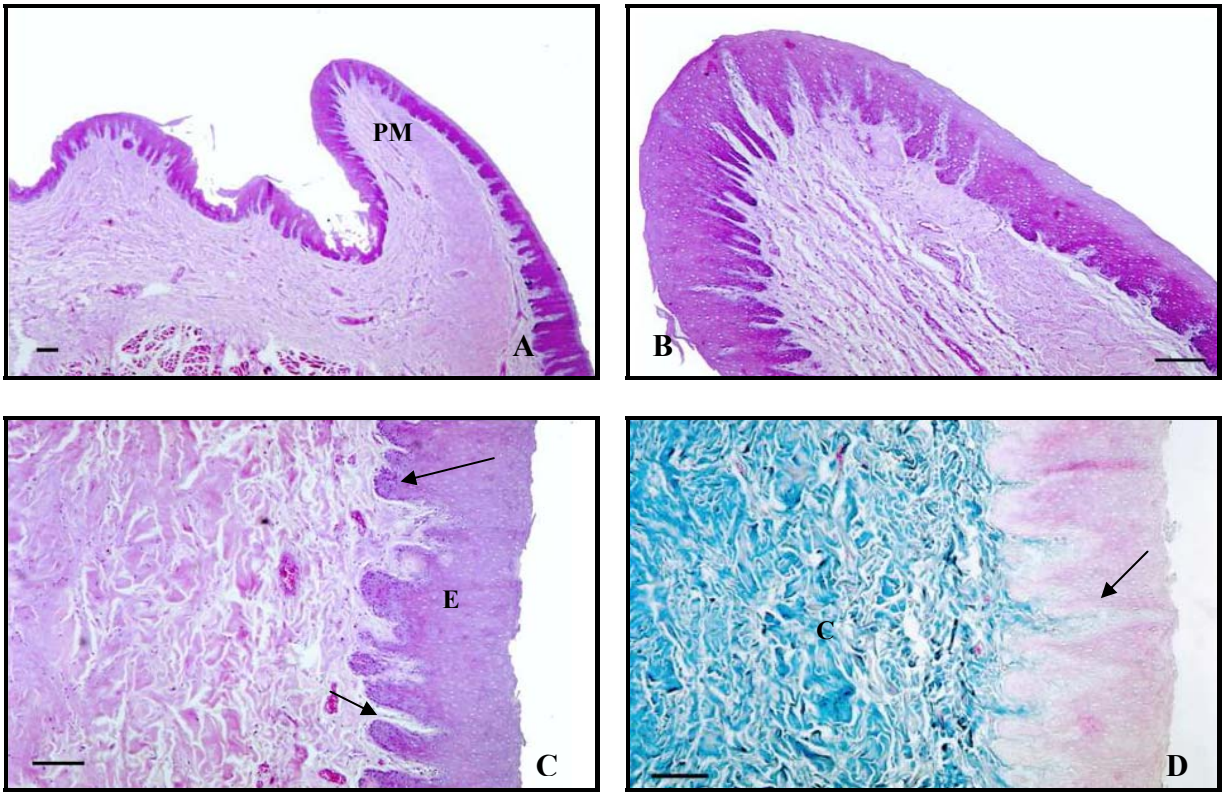


Figura 7 - Fotomicrografia do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – adulta. A: Mostra o aspecto geral da superfície dorsal, com a presença da papila marginal (PM). Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Mostra em maior aumento a papila marginal, com presença de papilas epiteliais e tecido conjuntivo. Hematoxilina-Eosina. 100X. C: Evidencia-se camada epitelial (E) e papilas epiteliais (seta maior) e papilas conjuntivas (seta menor). Hematoxilina-Eosina. 100X. D: Observa-se espessa camada de tecido conjuntivo (C) e projeções conjuntivas alongadas (seta) adentrando o epitélio. Azo-Carmim. 100X

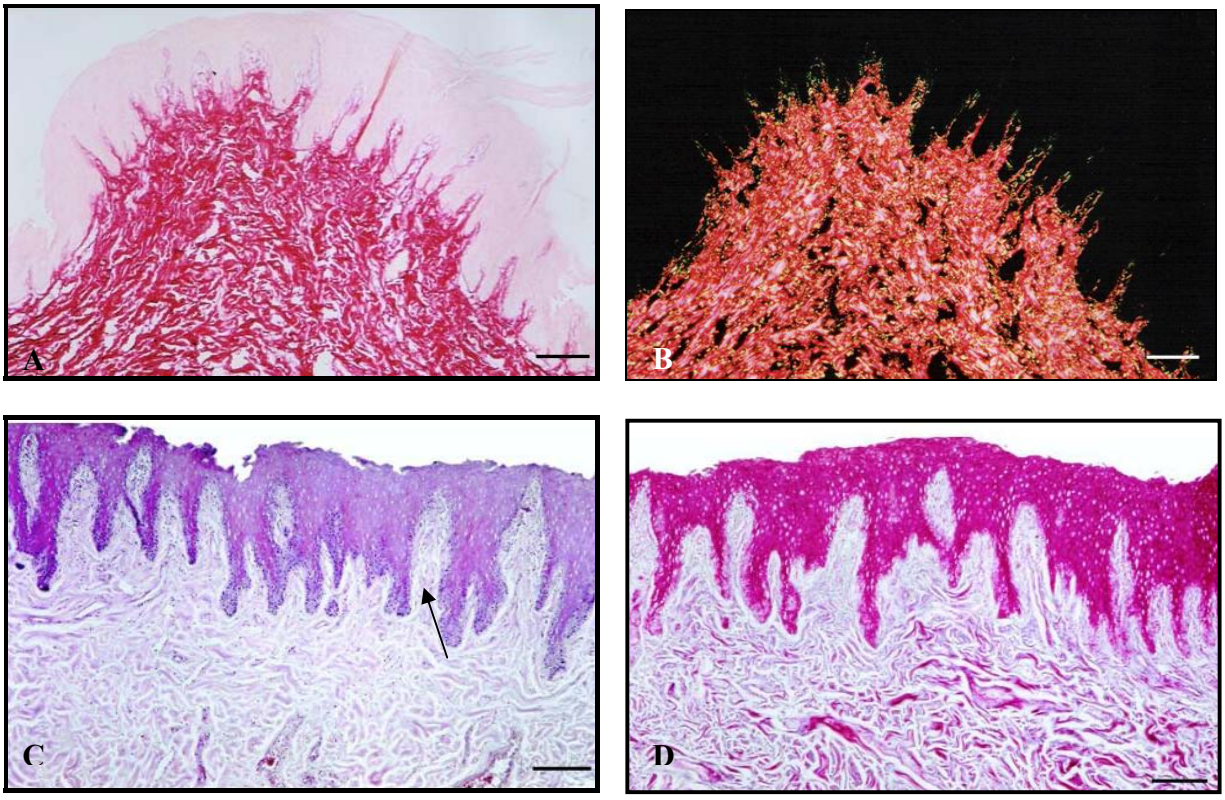


Figura 8 - Fotomicrografia do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – adulta. A: Observa-se corado em vermelho a distribuição e a disposição das papilas conjuntivas. Picro-sírius. 100X. B: Sob luz polarizada, observamos a presença de fibras colágenas do tipo I e III, predominando colágeno tipo I. Picro-sírius. 100X

Figura 9 - Fotomicrografia do terço médio da *Sotalia fluviatilis* – adulta. C: Nota-se camada delgada de epitélio e papilas conjuntivas (seta) de formato irregular. Hematoxilina-Eosina. 100X. D: Nota-se camada de tecido conjuntivo com suas projeções de formato irregular. Azo-Carmim. 100X

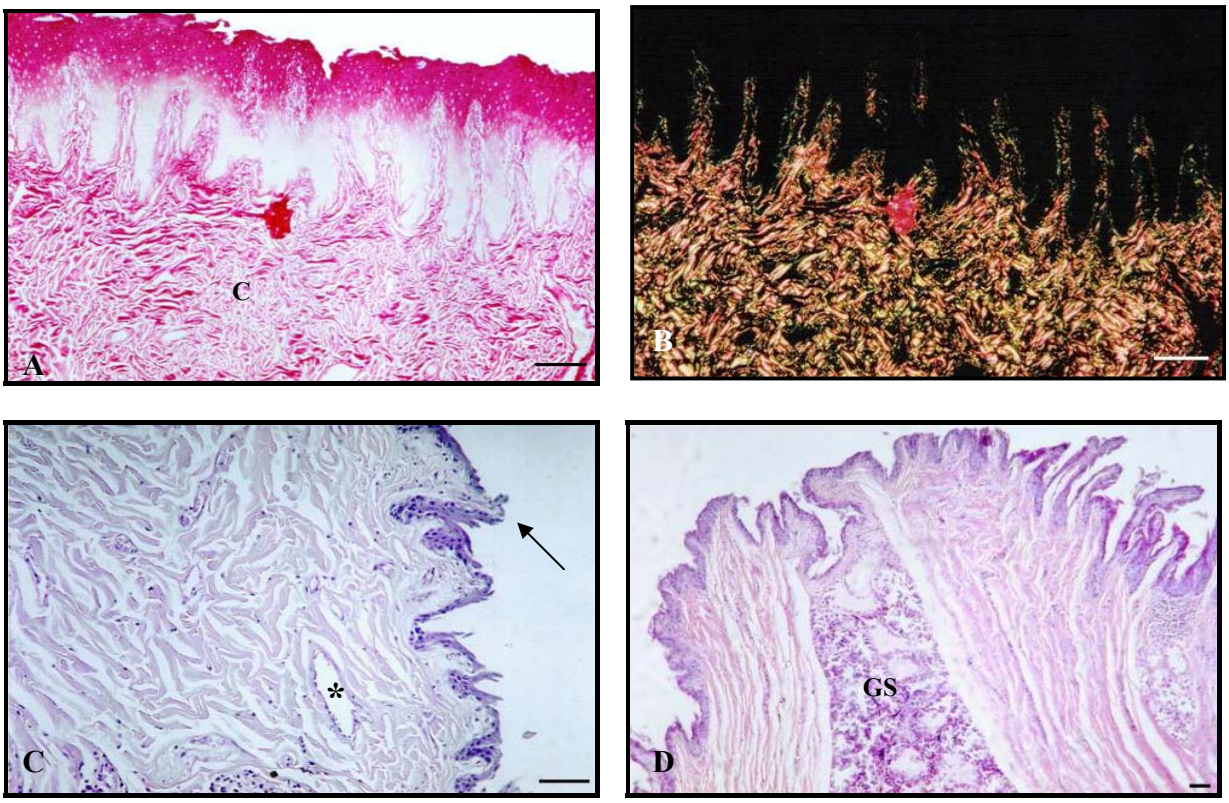


Figura 10 - Fotomicrografia do terço médio da *Sotalia fluviatilis* – adulta. A: Nota-se uma espessa camada de tecido conjuntivo (C), corada em vermelho. Picro-sírius. 100X. B: Evidencia-se sob luz polarizada a lâmina própria de tecido conjuntivo, identificando fibras colágenas do tipo I e III. Picro-sírius. 100X

Figura 11 - Fotomicrografia do terço caudal da *Sotalia fluviatilis* – adulta. C: Observa-se o epitélio delgado, as papilas filiformes (seta) e capilar (∗). Hematoxilina-Eosina.100X. D: Evidencia-se a presença de papilas filiformes e glândulas salivares (GS). Hematoxilina-Eosina. 100X

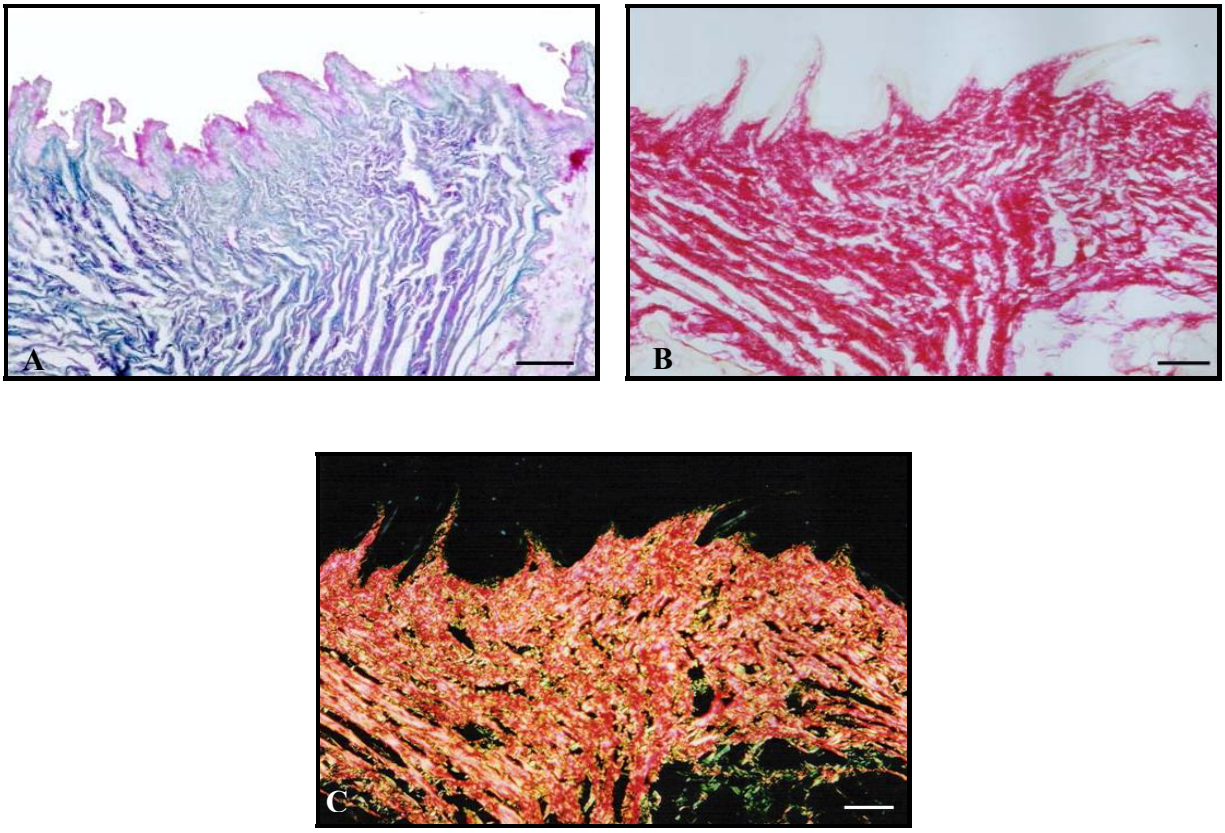


Figura 12 - Fotomicrografia do terço caudal da *Sotalia fluviatilis* – adulta. A: Evidencia-se uma fina camada epitelial queratinizada e papilas conjuntivas. Azo-Carmim. 25X. B: Nota-se a presença de tecido conjuntivo, corando em vermelho, compondo as papilas conjuntivas filiformes Picro-sírius. 100X. C: Nota-se sob luz polarizada, a presença de tecido conjuntivo, formado por entremeados de fibras colágenas do tipos I e III Picro-sírius. 100X

### 4.1.3 *Pontoporia blainville* – Filhote

O epitélio na região rostral é liso e suas papilas epiteliais se apresentaram longas e bifurcadas (Figura 13A). Na figura 13B observamos a camada basal, espinhosa, granulosa, córnea e suas projeções de papilas conjuntivas. Essas papilas conjuntivas apresentaram diferentes tamanhos, forma afilada e fibras colágenas do tipo I e III (Figuras 13C e D).

Na região média, foram observadas glândulas salivares com os seus ductos (Figura 14A). A figura 14B mostra a distribuição e disposição do tecido conjuntivo nas projeções papilares, que são distribuídas irregularmente e de diferentes tamanhos. Fibras colágenas do tipo I e III foram encontradas nas papilas conjuntivas, porém observa-se uma maior quantidade do tipo III (Figuras 14C e D).

Foi observado na região caudal uma grande quantidade de glândulas salivares, presença de papilas filiformes com ápice voltado caudalmente (Figura 15A) e papilas valadas (Figura 15B), com ausência de botões gustativos. Quando coradas pelo método de Picro-sírius e analisadas sob a luz polarizada notou-se a presença de fibras colágenas do tipo I e III (Figura 16A e B).

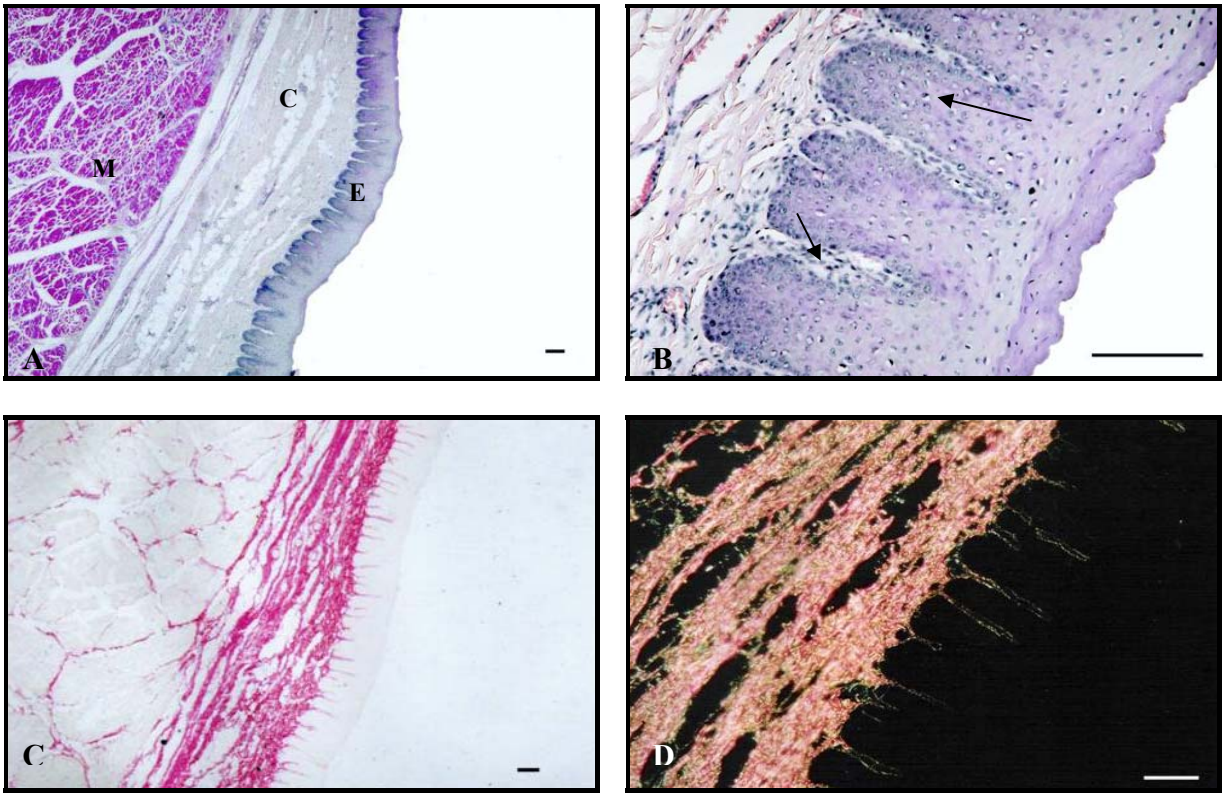


Figura 13 - Fotomicrografia do terço rostral da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Evidencia-se em um aspecto geral a superfície dorsal, composta pelas camadas epitelial (E), conjuntiva (C) e muscular (M). Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Observa-se a presença de papilas epiteliais (seta maior) e papilas conjuntivas (seta menor). Hematoxilina-Eosina. 200X. C: Nota-se em vermelho a presença de tecido conjuntivo entre as fibras musculares. Picro-sírius. 25X. D: Observa-se sob luz polarizada as papilas conjuntivas de forma afilada e fibras colágenas do tipo I e III. Picro-sírius. 100X

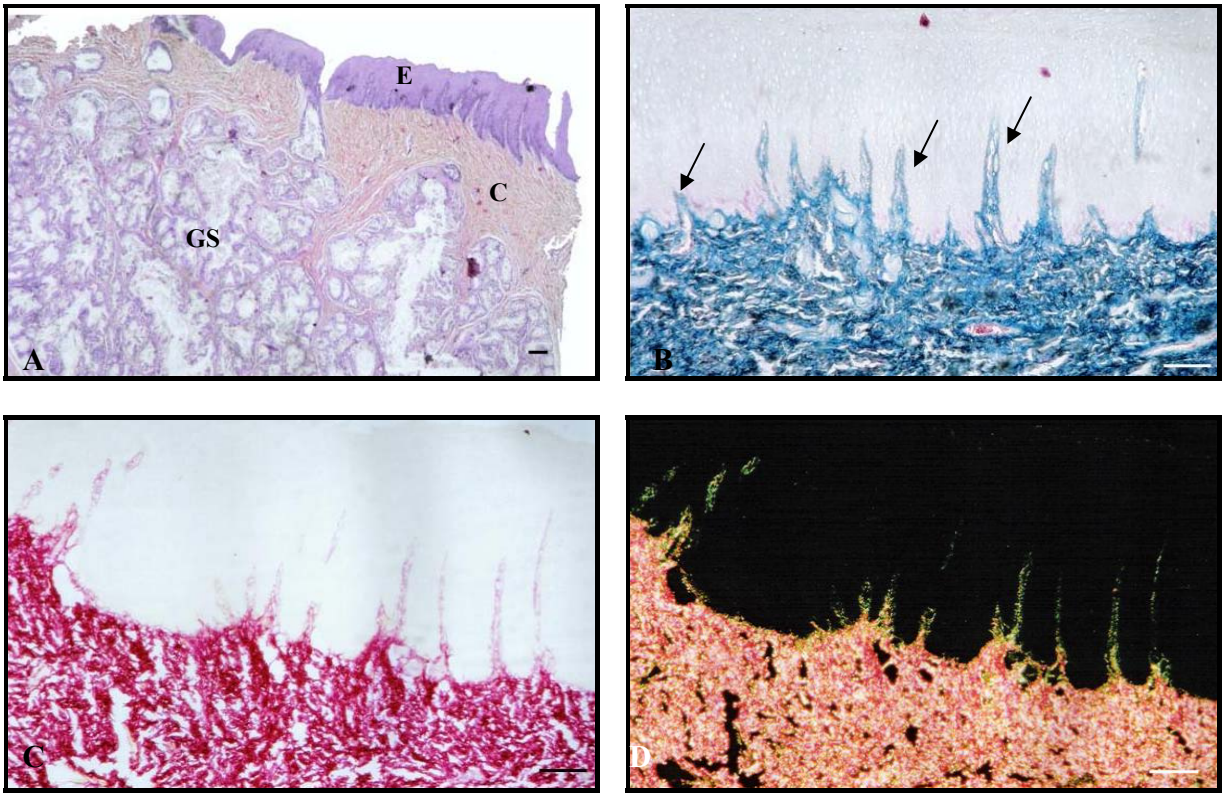


Figura 14 - Fotomicrografia do terço médio da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Observa-se a camada epitelial (E), tecido conjuntivo e glândulas salivares (GS). Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Nota-se a camada conjuntiva e suas projeções papilares irregulares e de diferentes tamanhos (seta). Azo-Carmim. 100X. C: Em vermelho observa-se a distribuição de tecido conjuntivo. Picro-sírius. 100X. D: Sob luz polarizada observa-se fibras colágenas do tipo I e III. Picro-sírius. 100X

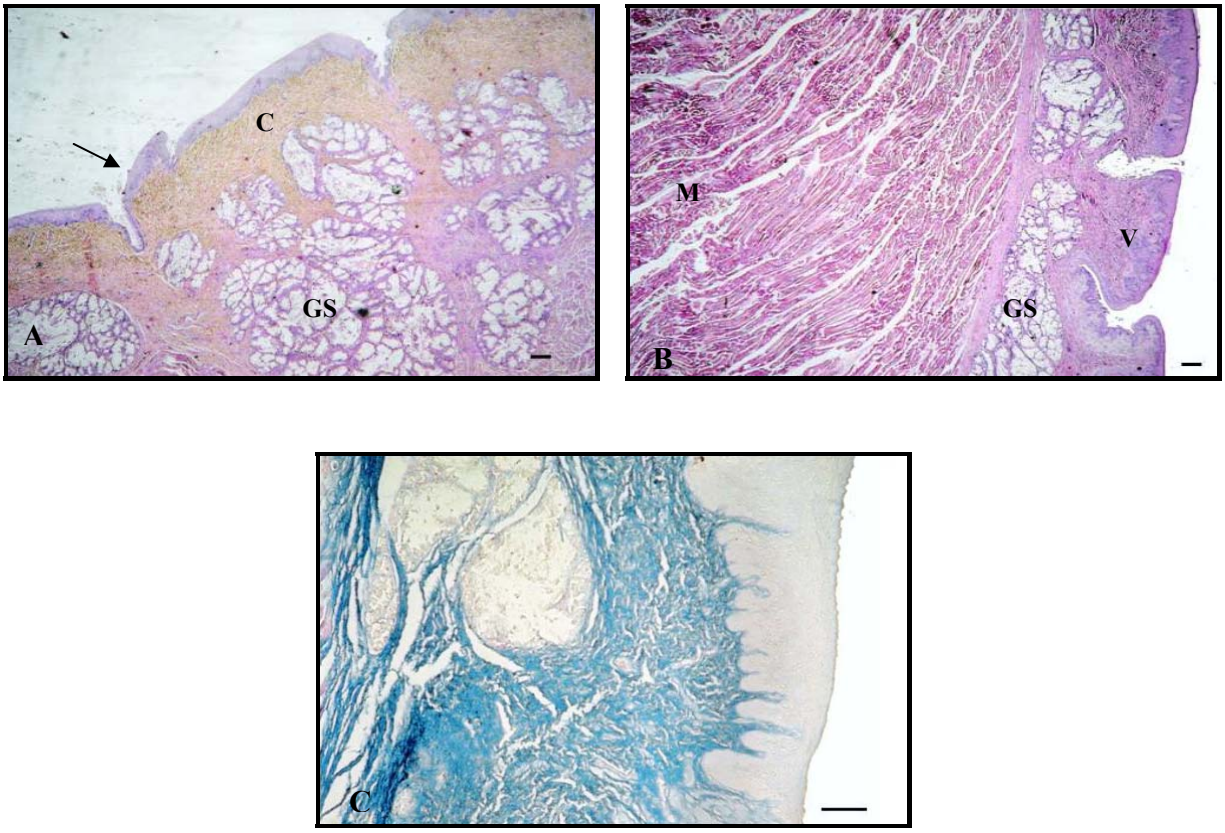


Figura 15 - Fotomicrografia do terço caudal da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Nota-se a presença de papilas filiformes (seta), uma camada espessa de tecido conjuntivo (C) e glândulas salivares (GS). Hematoxilina- Eosina. 25X. B: Nota-se a presença de papila valada (seta), glândulas salivares (GS) e a camada muscular (M). Hematoxilina- Eosina. 25X. C: Nota-se uma espessa camada de tecido conjuntivo intensamente corado em azul. Azo-Carmim. 100X

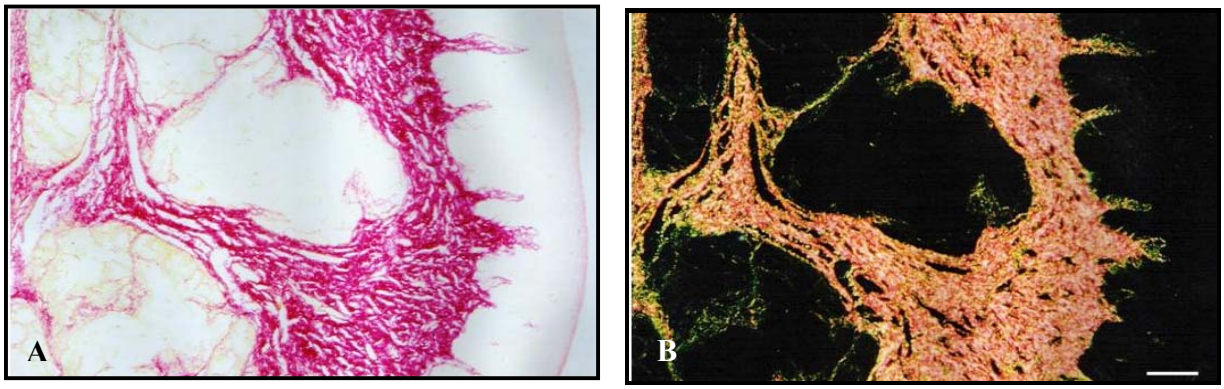


Figura 16 - Fotomicrografia do terço caudal da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Demonstra uma densa camada de tecido conjuntivo corada em vermelho. Picro-sírius. 100X. B: Evidencia-se sob luz polarizada a presença de fibras colágenas do tipo I e III, predominando fibras colágenas do tipo I. Picro-sírius. 100X

### 4.1.4 *Pontoporia blainville* – Adulto

A região rostral revelou a camada epitelial espessa e lisa, tendo uma camada córnea delgada (Figura 17B). Na figura 17A observa-se pelo método de Azo-Carmim o epitélio corado em rosa e o tecido conjuntivo em azul, onde as projeções papilares são de forma irregular e de diferentes tamanhos.

Quando observadas sob a luz polarizada pelo método de Picro-síris observa-se a distribuição de fibras colágenas do tipo I e III na região rostral da língua (Figuras 17C e D).

Na figura 18A observa-se a camada basal, espinhosa e córnea e projeções papilares de diferentes tamanhos e formas irregulares. Os vasos sanguíneos são notados na lâmina própria. Na região média nota-se também a presença de glândulas salivares, com os seus ductos (Figura 18B). Na coloração de Picro-sírius mostra uma densa distribuição de fibras colágenas do tipo I e III, predominando as fibras do tipo I (Figura 18C e D).

Na região caudal também pode-se notar uma grande quantidade de glândulas salivares (Figura 19A). Observou-se que as papilas epiteliais se apresentam largas e com sua base arredondada e vasos sanguíneos de vários diâmetros no tecido conjuntivo (Figura 19B). Quando coradas com Azo-Carmim nota-se a distribuição e disposição do tecido conjuntivo e a melhor evidenciação das papilas conjuntivas coradas em azul (Figura 19C). Quando observado pela coloração de Picro-sírius nota-se a presença de fibras colágenas do tipo I e III (Figuras 20A e B).

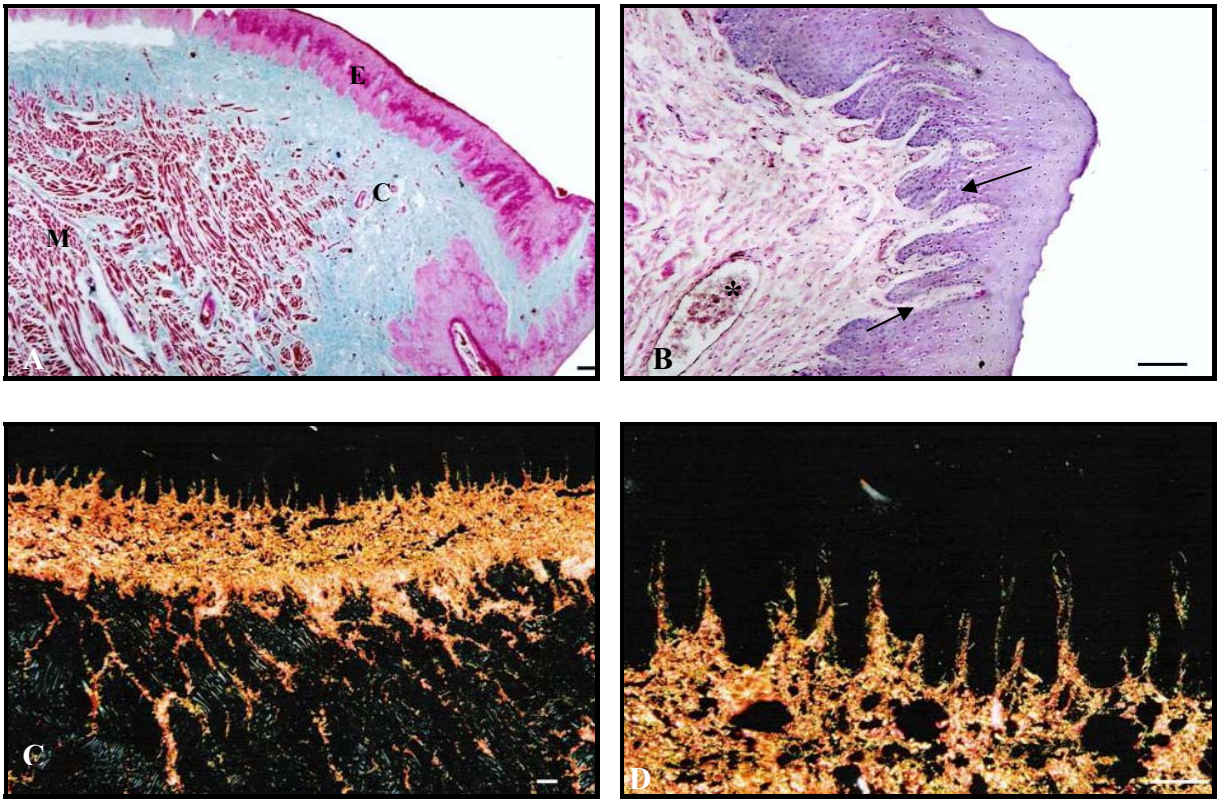


Figura 17- Fotomicrografia do terço rostral da *Pontoporia blainvillei* – adulto. A: Observa-se em um aspecto geral as camadas epiteliais (E), conjuntivas (C) e muscular (M). Azo-Carmim. 25X. B: Nota-se a presença de papilas epiteliais (seta maior), as papilas conjuntivas (seta menor) e capilar (∗). Hematoxila-Eosina. 100X. C: Observa-se sob luz polarizada as fibras colágenas densamente distribuídas entre a camada muscular. Picro-sírius. 25X. D: Em maior aumento evidencia-se as papilas conjuntivas formadas por fibras colágenas do tipo I e III. Picro-sírius. 100X

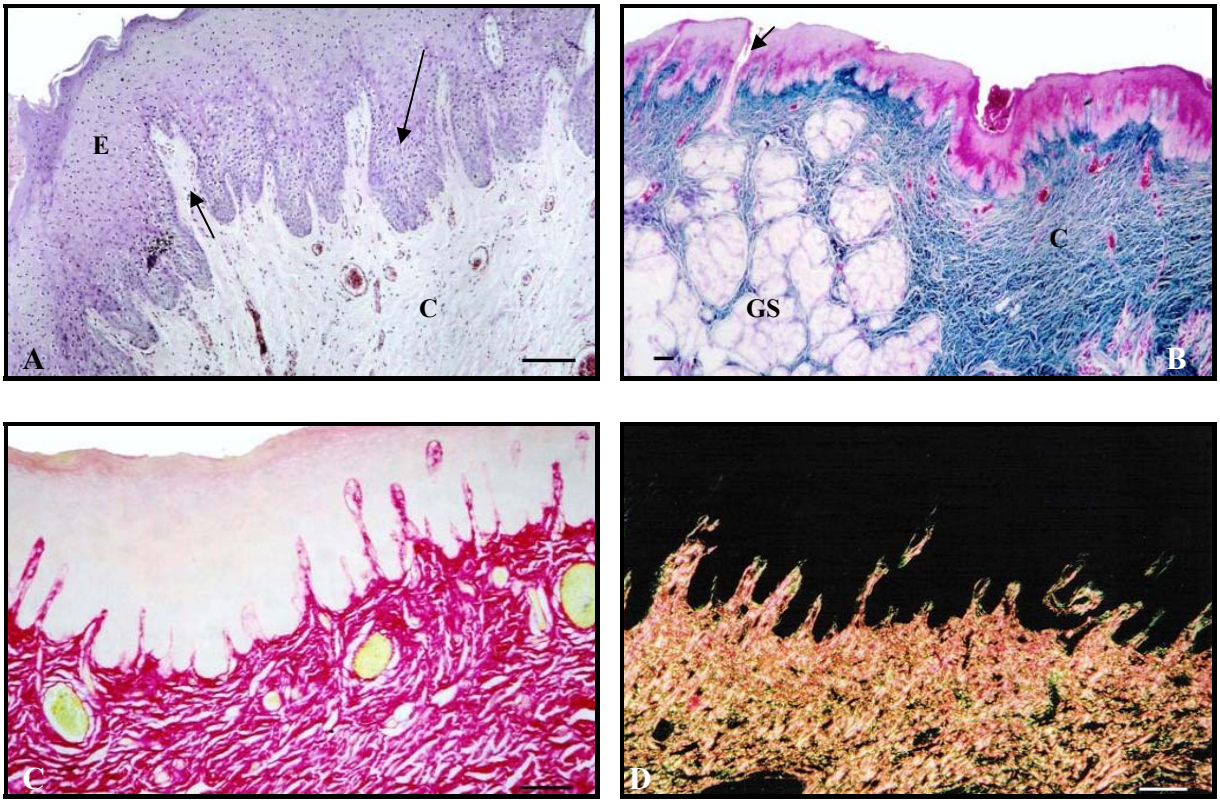


Figura 18 - Fotomicrografia do terço médio da *Pontoporia blainvillei* – adulto. A: Observa-se a camada epitelial (E) e conjuntiva (C), papilas epiteliais (seta maior) e conjuntivas (seta menor). Hematoxilina-Eosina. 100X. B: Observa-se a camada de tecido conjuntivo corado em azul (C), contendo glândulas salivares (GS) e ducto salivar (seta). Azo-Carmim. 25X. C: Observa-se a camada de tecido conjuntivo e suas projeções papilares, corados em vermelho. Picro-sírius. 100X. D: Observa-se sob luz polarizada, uma densa camada de fibras colágenas do tipo I e III. Picro-sírius. 100X

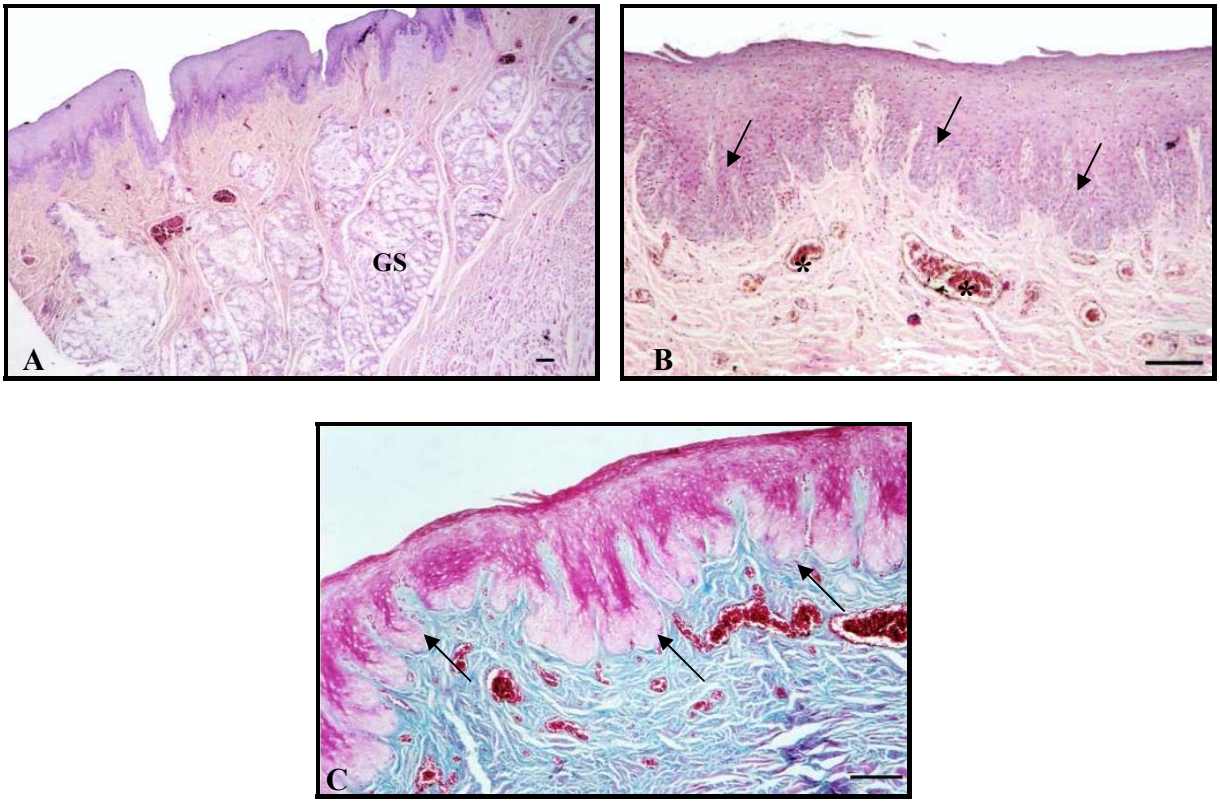


Figura 19 - Fotomicrografia do terço caudal da *Pontoporia blainvillei* – adulto. A: Observa-se em um aspecto geral da face dorsal da língua e a presença de glândulas salivares (GS) Hematoxilina-Eosina. 25X. B: Evidencia-se as papilas epiteliais (seta) e capilares (*) distribuídos na lâmina de tecido conjuntivo (C) e Hematoxilina-Eosina. 100X. C: Evidencia-se as papilas conjuntivas (seta) e o tecido conjuntivo densamente corados em azul. Azo-Carmim. 100X

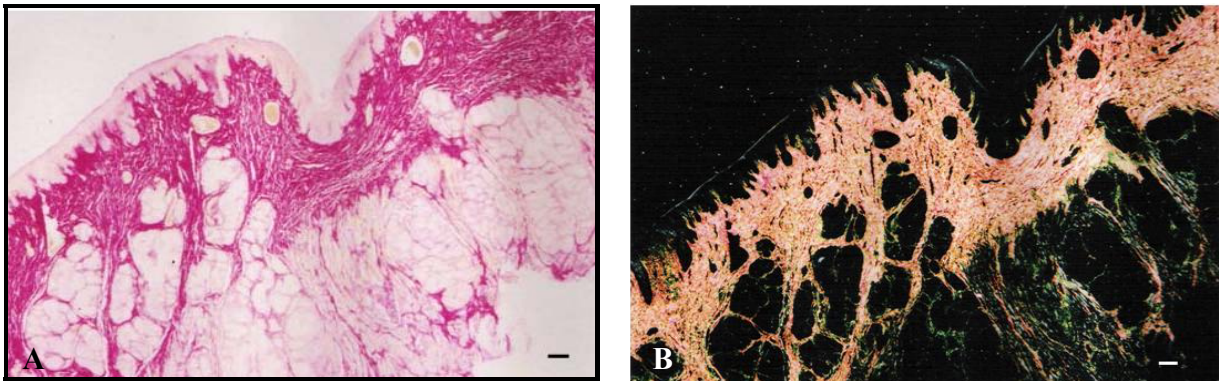


Figura 20 - Fotomicrografia do terço caudal da *Pontoporia blainvillei* – adulto. Observa-se a distribuição de tecido conjuntivo (vermelho) na superfície dorsal da língua. Picro-sírius. 25X. B: Sob luz polarizada nota-se a distribuição de fibras colágenas do tipo I e III. Picro-sírius. 25X

## 4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Após o tratamento com solução de hidróxido de sódio, as amostras tiveram a camada epitelial removida, expondo as projeções de papilas conjuntivas do tipo filiformes.

As papilas filiformes refletem a forma original de cada papila, ou seja, a distribuição de tecido conjuntivo.

Foi possível observar que a superfície dorsal de ambas as espécies é totalmente recoberta por papilas conjuntivas do tipo filiforme. Observa-se também a presença de forames dos ductos das glândulas salivares nas porções média e caudal da língua, sendo eles mais numerosos na língua de filhotes.

### 4.2.1 *Sotalia fluviatilis* – Filhote

Na porção rostral foram encontradas as papilas marginais e as correspondentes papilas conjuntivas afiladas (Figura 20B). Foi observado também a presença destas papilas na região ventral do ápice da língua (Figura 20A), porém elas se apresentam mais baixas que as encontradas no dorso e de forma triangulares (Figuras 20C e D).

Nas regiões média e caudal observa-se grande quantidade de forames dos ductos de glândulas salivares (Figuras 22A) e papilas conjuntivas do tipo filiformes baixas com seu ápice arredondado (Figura 22B). Os forames dos ductos das glândulas salivares na região caudal encontraram-se delimitados por sulcos transversais (Figuras 22C e D).

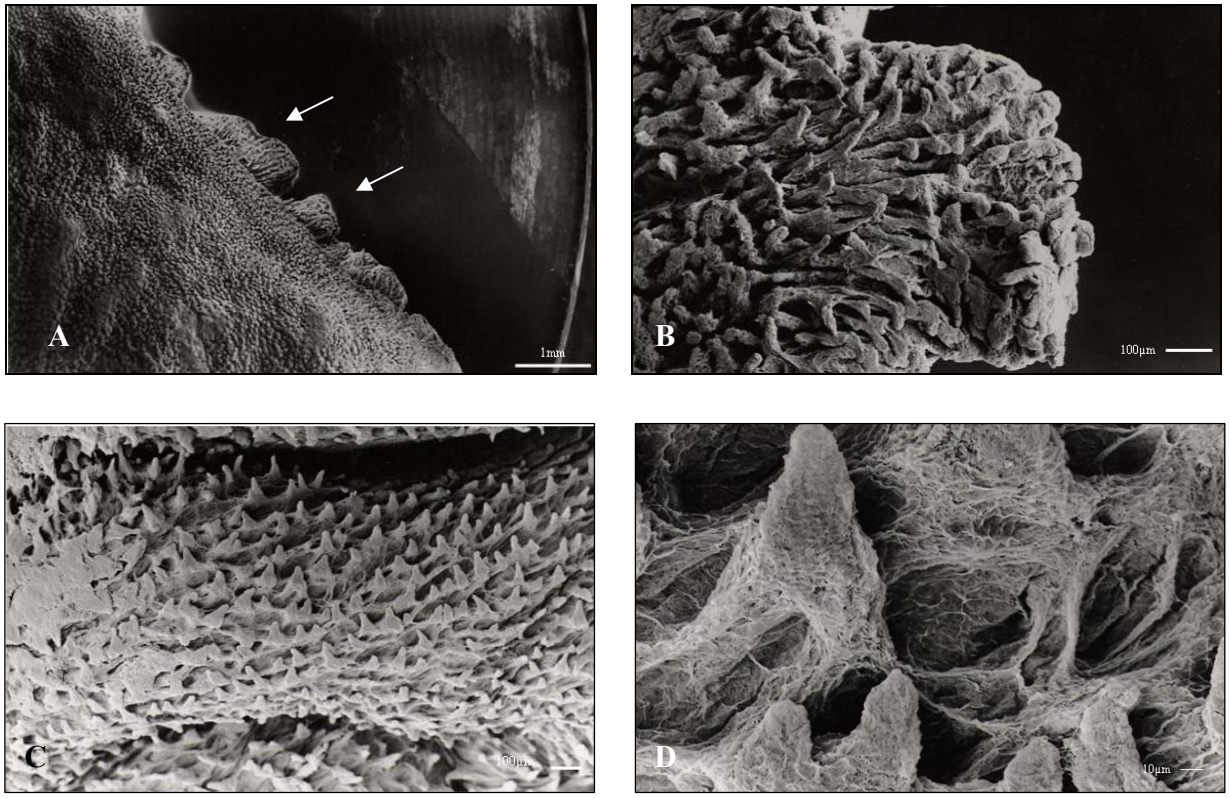


Figura 21 – Microscopia eletrônica de varredura do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Observa-se a presença de papilas conjuntivas do tipo filiformes, volumosa na superfície ventral do ápice lingual (setas). B: Observa-se a papilas conjuntivas na margem da língua, evidenciando projeções filiformes. C: Observa-se na região ventral do ápice lingual a distribuição de papilas conjuntivas filiformes baixas de aspecto triangular. D: Em maior aumento nota-se a presença na região ventral do ápice lingual, papilas conjuntivas filiformes.

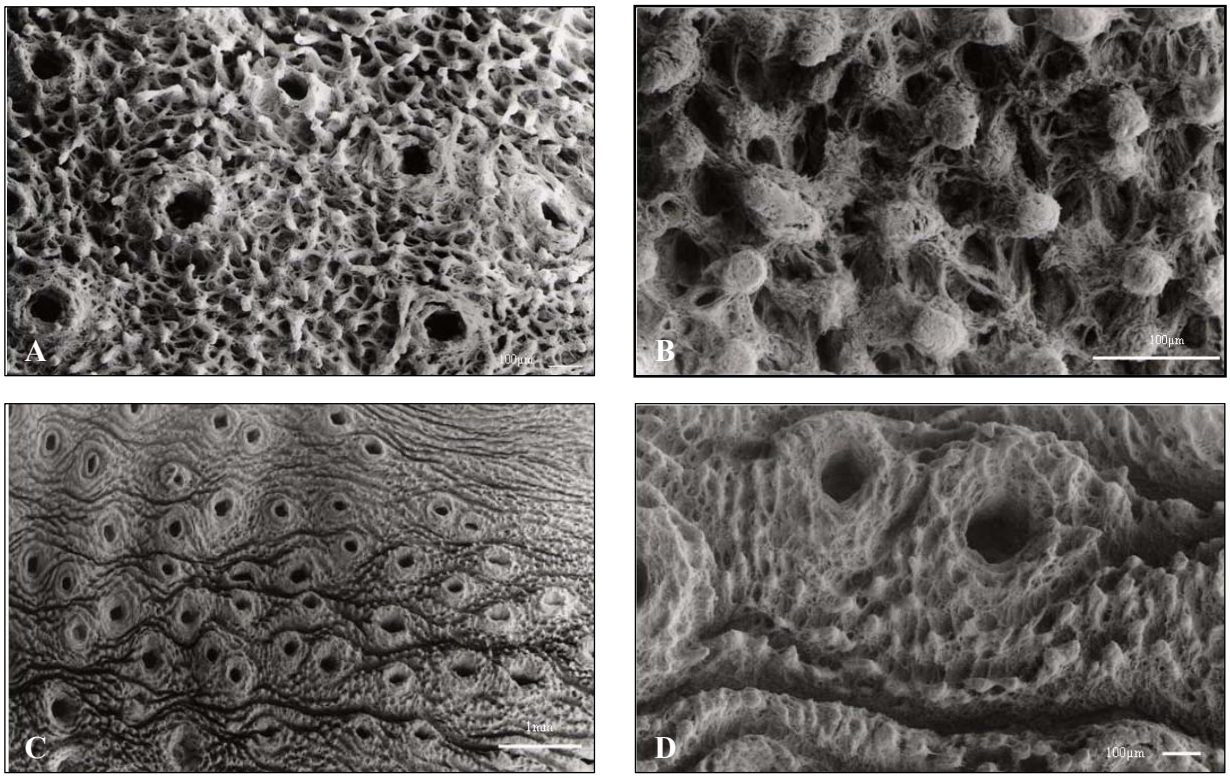


Figura 22 - Microscopia eletrônica de varredura do terço média da *Sotalia fluviatilis* – filhote. A: Observa-se papilas conjuntivas baixas e forames dos ductos de glândulas salivares. B: Em maior aumento, nota-se papilas conjuntivas baixas com o seu ápice arredondado. C: Observa-se a presença de forames de ductos de glândulas salivares e por sulcos transversais profundos. D: Em detalhe, observa-se sulcos transversais margeando os forames de glândulas salivares.

### 4.2.2 *Sotalia fluviatilis* – Adulto

Revestindo as papilas marginais foram encontradas papilas baixas, sem forma definida (Figuras 23 A e B). Na superfície dorsal do ápice lingual foram encontradas papilas pequenas, baixas e orientadas caudalmente (Figura 23C). Na região ventral do ápice, as papilas são baixas e de forma triangular, porém mais robustas quando comparadas com a região dorsal (Figuras 24A e B)

Nos adultos na região média, observa-se papilas conjuntivas do tipo filiforme altas e delgadas (Figura 25C). Na figura 25D, observa-se em maior aumento os feixes de fibras colágenas entrelaçados e dispostos em sentido base-ápice. Observou-se uma estrutura arredondada com orifício, rodeada por papilas filiformes (Figuras 26A e B). Na região caudal estas papilas se apresentam com a mesma forma, porém orientadas circularmente e separadas por sulcos horizontais (Figuras 27C e D).

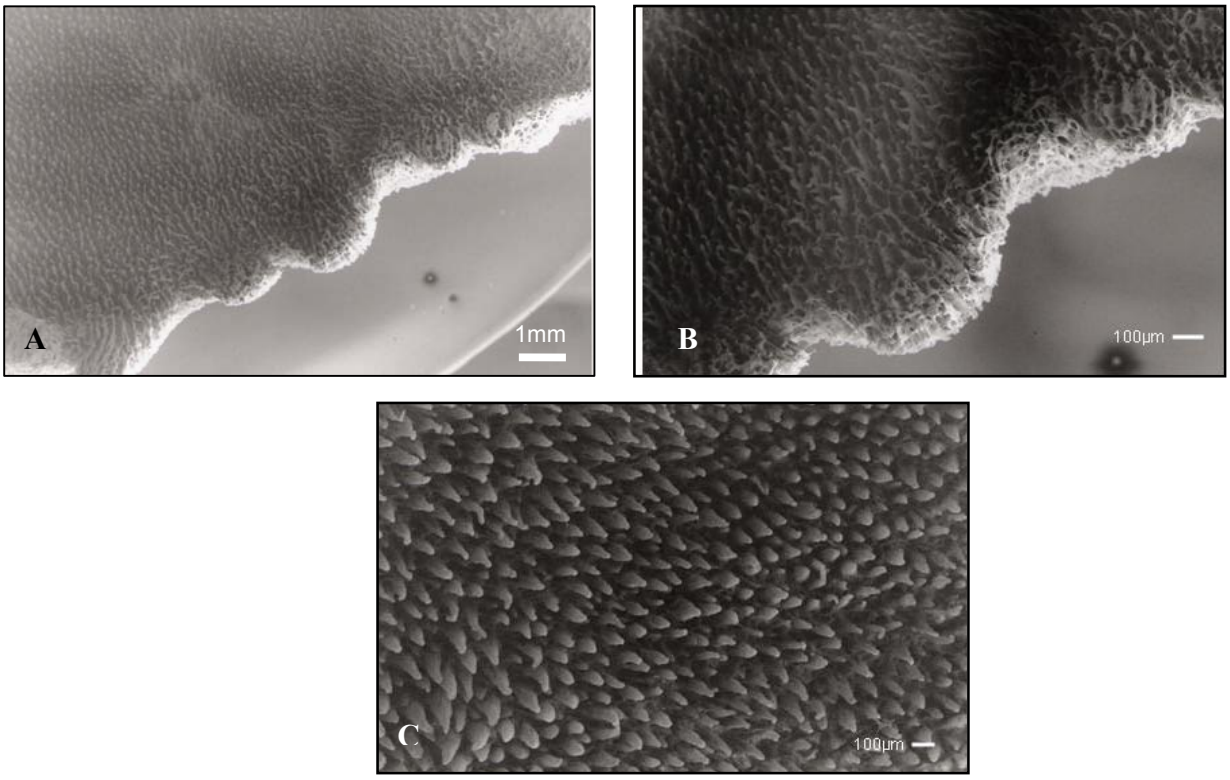


Figura 23 - Microscopia eletrônica de varredura do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – adulto. A: Observa-se na superfície dorsal do ápice lingual, papilas baixas sem forma definida sobre a papila marginal. B: Em maior aumento, observa-se distribuídas sobre as papilas marginais inúmeras papilas baixas. C: Observa-se papilas conjuntivas filiformes distribuídas na superfície dorsal da língua, evidenciamdo em aspecto tridimensional

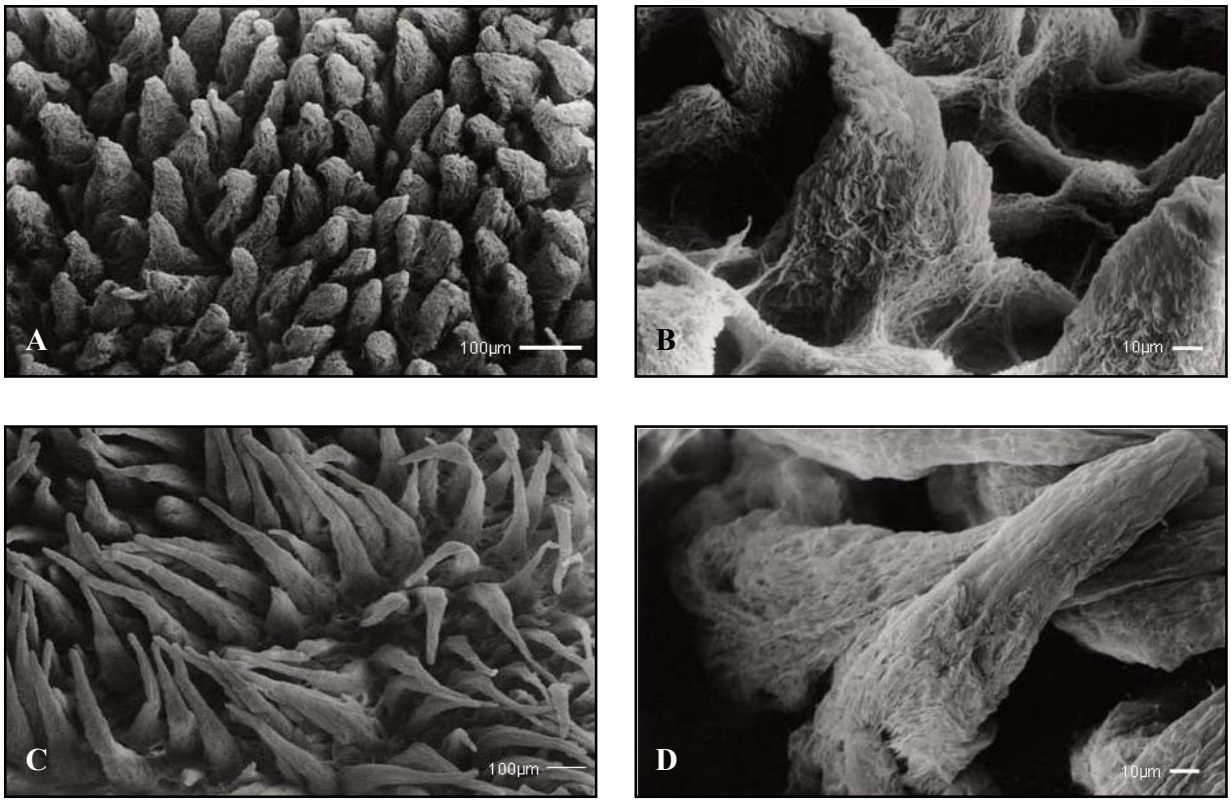


Figura 24 - Microscopia eletrônica de varredura do terço rostral da *Sotalia fluviatilis* – adulto. A: Papilas conjuntivas filiformes robustas distribuídas pela superfície ventral do ápice lingual. B: Em detalhe observa-se papilas conjuntivas filiformes robustas e de forma triangular distribuídas pela superfície ventral do ápice lingual.

Figura 25 - Microscopia eletrônica de varredura do terço médio da *Sotalia fluviatilis* – adulto. C: Observa-se papilas conjuntivas filiformes altas e delgadas. D: Em maior aumento observa-se a distribuição das fibras colágenas em sentido base-ápice.

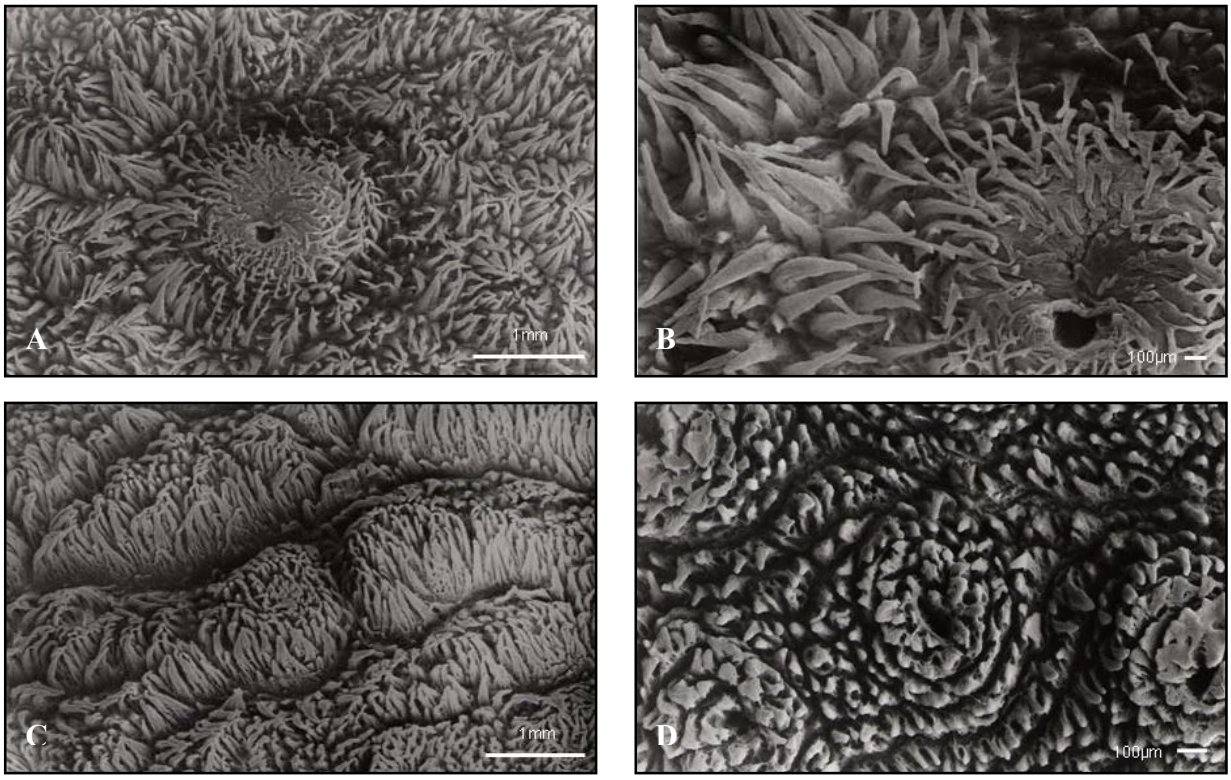


Figura 26 - Microscopia eletrônica de varredura do terço médio da *Sotalia fluviatilis* – adulto. A: Nota-se a presença de uma estrutura arredondada, rodeadas por papilas conjuntivas de aspecto filiformes. B: Evidencia-se em maior aumento presença de uma estrutura arredondada com um forame, recoberta por papilas conjuntivas filiformes.

Figura 27 - Microscopia eletrônica de varredura do terço caudal da *Sotalia fluviatilis* – adulto. C: Papilas filiformes altas e finas, delimitadas por sulcos horizontais. D: Observa-se papilas filiformes orientadas circularmente.

### 4.2.3 *Pontoporia blainvillei* – Filhote

Na região rostral da língua dos filhotes foram encontradas papilas conjuntivas do tipo filiforme baixas e densamente distribuídas por todo dorso da língua. (Figuras 28A e B).

Na superfície média da língua do filhote não foi observada a presença de papilas filiformes (Figura 29 C). No terço médio e caudal verificou-se numerosos forames de ductos de glândulas salivares (Figuras 29D e 30A). No terço caudal, encontrou-se papilas filiformes baixas (Figura 31B). As estruturas conjuntivas arredondadas com margens irregulares e numerosas projeções pequenas ao redor das mesmas (Figuras 31C e D) foram notadas.

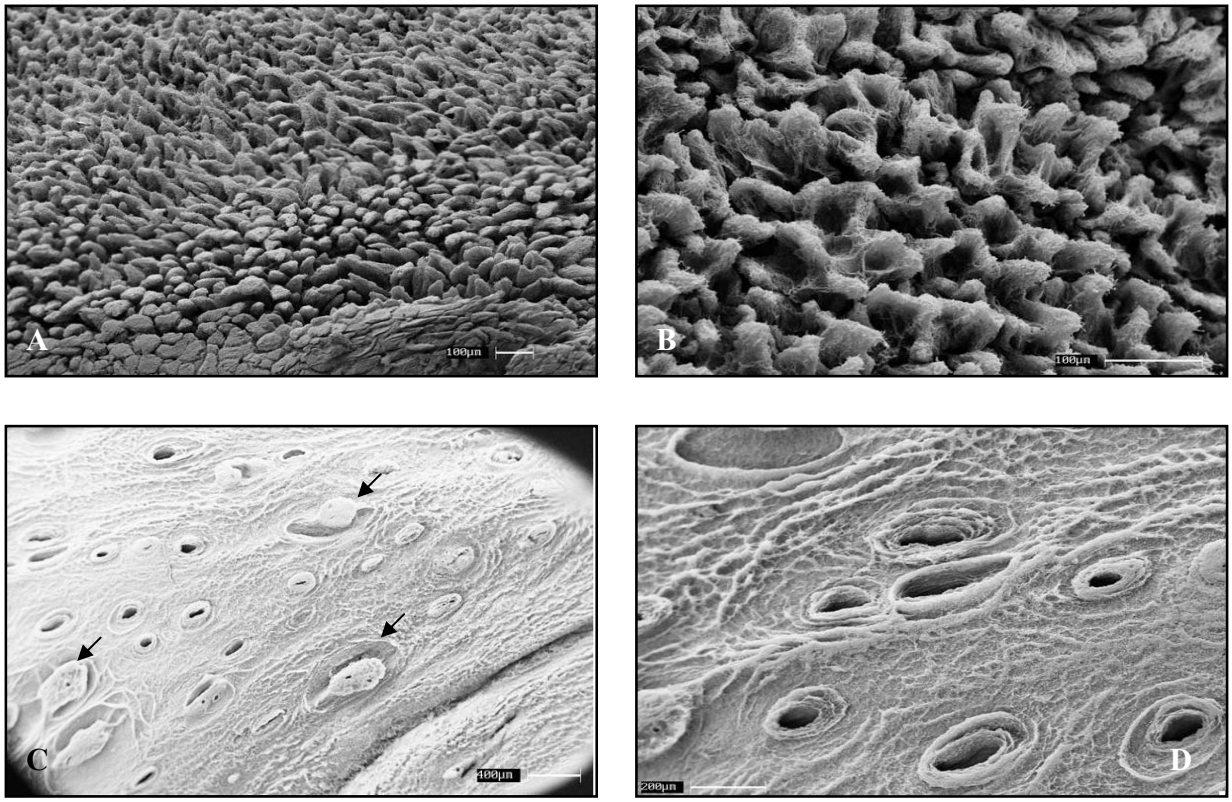


Figura 28 - Microscopia eletrônica de varredura do terço rostral da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Nota-se a presença de papilas conjuntivas filiformes baixas distribuídas pelo dorso da língua. B: Nota-se a presença de papilas conjuntivas filiformes baixas com ápice arredondado, distribuídas pelo dorso da língua.

Figura 29 - Microscopia eletrônica de varredura do terço médio da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Em um aspecto geral da superfície dorsal verifica-se a presença estruturas conjuntivas arredondadas (seta) e forame dos ductos de glândulas salivares. B: Em maior aumento, observa-se os forames dos ductos de glândulas salivares distribuídos pelo dorso da língua.

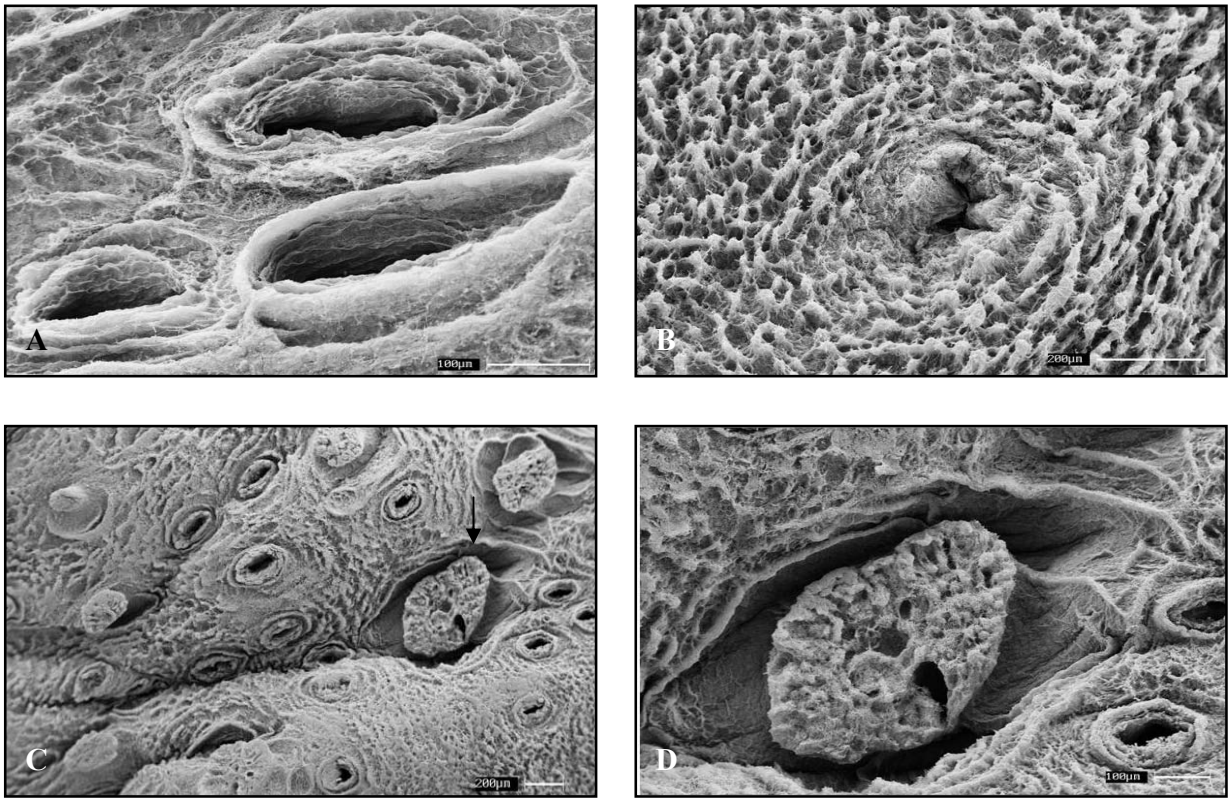


Figura 30 - Microscopia eletrônica de varredura do terço médio da *Pontoporia blainvillei* – filhote. A: Em maior aumento, nota-se a disposição original de tecido conjuntivo.

Figura 31 - Microscopia eletrônica de varredura do terço caudal da *Pontoporia blainvillei* – filhote. B: Verifica-se a presença de papilas conjuntivas filiformes baixas circundando o forame do ducto da glândula salivar. C: Verifica-se a presença de papilas conjuntivas filiformes baixas, forames de ductos de glândulas salivares e estruturas conjuntivas arrdondadas (seta). D: Em detalhe, observa-se a estrutura conjuntiva arredondada, circundada por um sulco.

### 4.2.4 *Pontoporia blainvillei* - Adulto

No ápice lingual, as papilas marginais apresentam-se totalmente recobertas por papilas filiformes alongadas (Figuras 32A e B). A superfície dorsal (Figura 32C) e o ápice lingual são revestidos por numerosas papilas filiformes alongadas, com ápice arredondado e voltadas caudalmente (Figuras 32D). Já na superfície ventral essas papilas eram menores e de forma triangular (Figuras 33A e B).

Na região média e caudal da língua, as papilas conjuntivas do tipo filiforme foram encontradas densamente distribuídas ao redor de estruturas conjuntivas arredondadas (Figura 34C), muitas vezes apresentando um sulco ao seu redor (Figura 34D). Porém no terço médio as papilas filiformes mostram-se mais altas (Figura 35A) enquanto que no terço caudal pode-se encontrar papilas baixas e alongadas (Figura 36B). As estruturas arredondas e circunscritas contendo numerosas projeções papilares foram notadas no terço caudal da língua (Figura 36C).

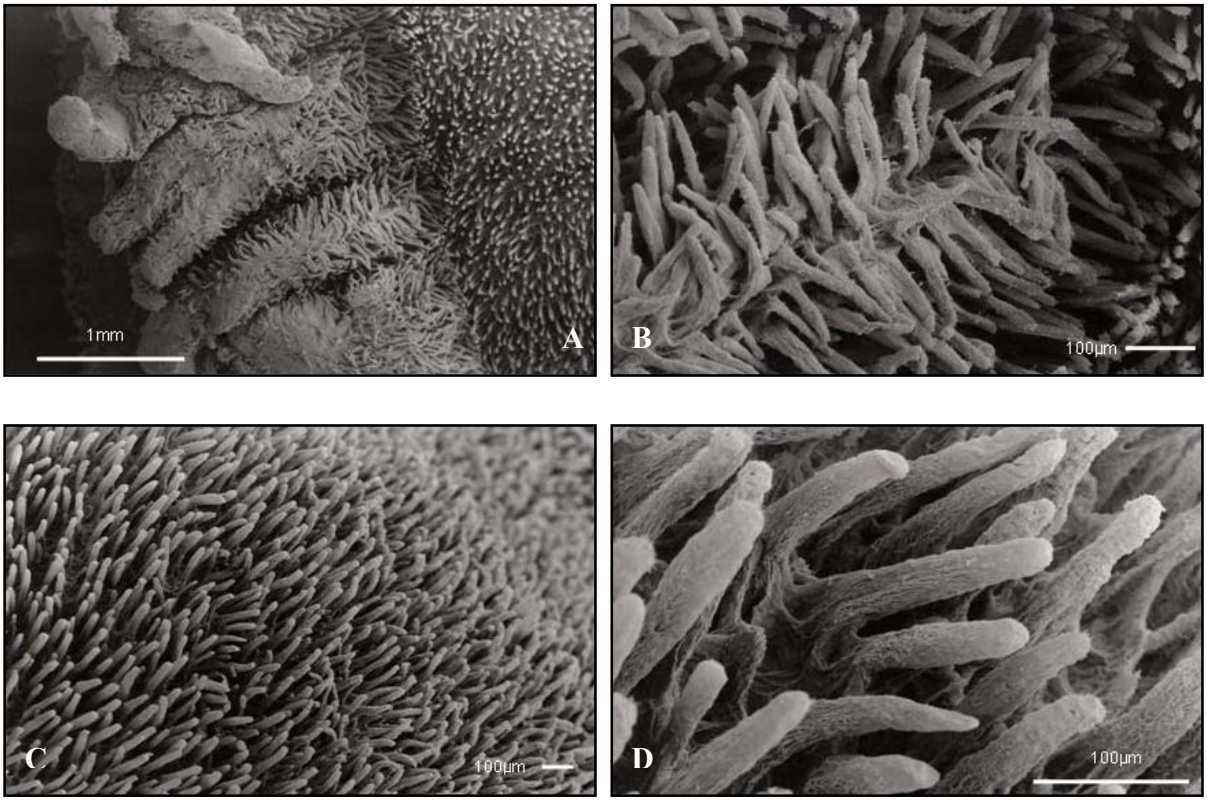


Figura 32 **-** Microscopia eletrônica de varredura do terço rostral da *Pontoporia blainvillei* – adulta. A: Nota-se no ápice lingual papilas marginais recoberta por numerosas papilas conjuntivas filiformes alongadas. B: Em detalhe, observa-se a distribuição das papilas filiformes localizadas nas papilas marginais. C: Evidencia-se papilas filiformes alongadas revestindo todo dorso e ápice lingual. D: Em maior aumento observa-se as papilas filiformes alongadas, com se ápice arredondado e voltadas caudalmente.

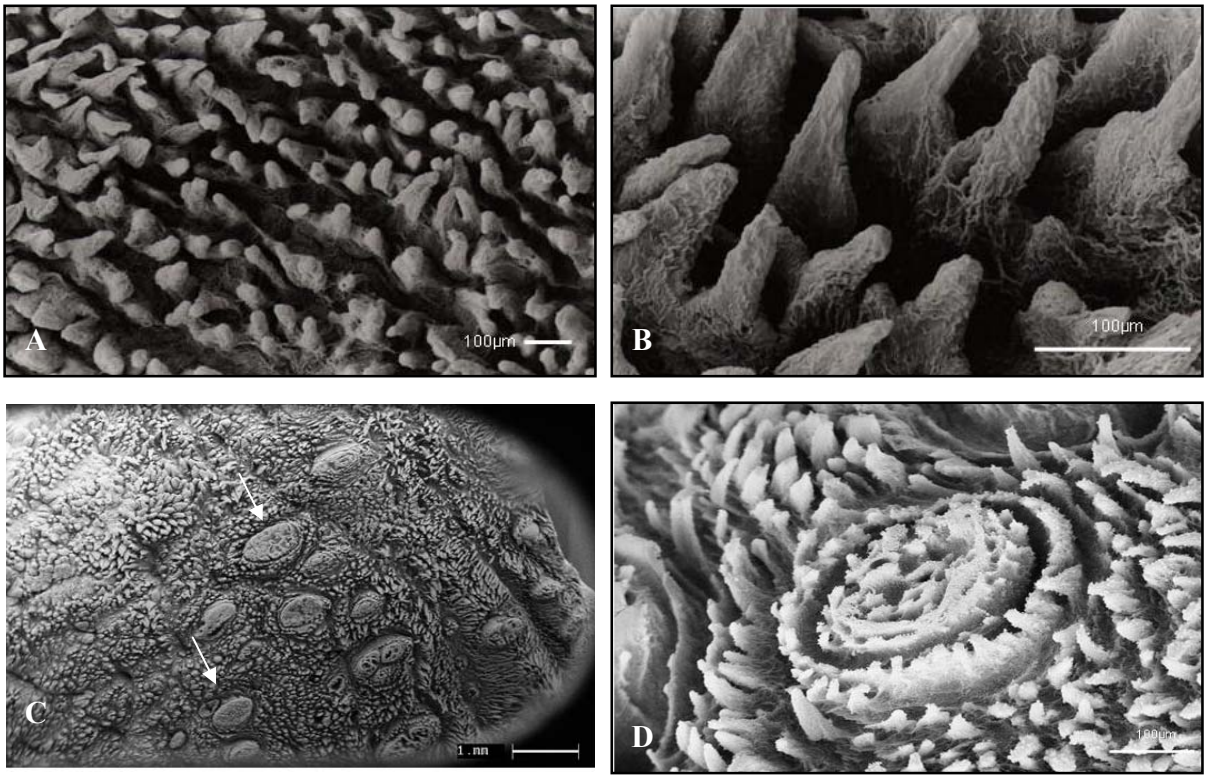


Figura 33 - Microscopia eletrônica de varredura do terço rostral da *Pontoporia blainvillei* – adulta. A: Nota-se na superfície ventral do ápice lingual papilas baixas e de forma triangular. B: Observa-se a distribuição de fibras colágenas das papilas conjuntivas filiformes da superfície ventral do ápice lingual.

Figura 34 - Microscopia eletrônica de varredura do terço médio da *Pontoporia blainvillei* – adulta. C: Observa-se estruturas conjuntivas arredondadas (seta) envoltas por papilas conjuntivas do tipo filiforme. D: Em maior aumento, observa-se a estrutura conjuntiva arredondada envolta por um sulco e papilas conjuntivas filiformes.

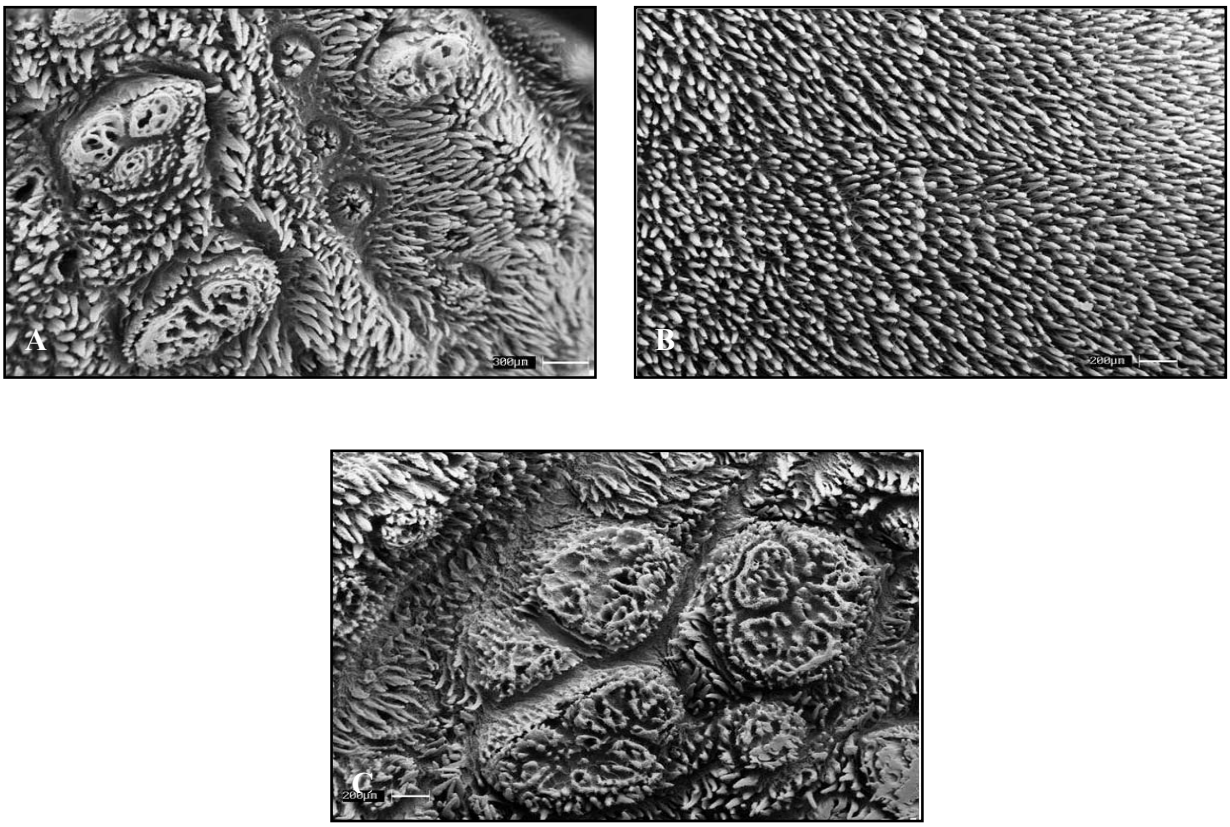


Figura 35 - Microscopia eletrônica de varredura do terço médio da *Pontoporia blainvillei* – adulta. A: Notam-se papilas conjuntivas filiformes altas recobrindo toda superfície dorsal

Figura 36 - Microscopia eletrônica de varredura do terço caudal da *Pontoporia blainvillei* – adulta. B: Observam-se papilas conjuntivas filiformes baixas distribuídas por toda superfície dorsal da língua. C: Observa-se em detalhe as estruturas conjuntivas arredondadas circundadas por papilas conjuntivas filiformes baixas

## 4.3. ANÁLISE MORFOMÉTRICA

As medidas do comprimento (μm) das papilas filiformes dos filhotes e dos adultos foram obtidos e analisados empregando o teste t de Student.

### 4.3.1 *Sotalia fluviatilis*

Os resultados obtidos na mensuração do comprimento das papilas conjuntivas do tipo filiforme do filhote e adulto estão apresentados na tabela 1 e figura 37.

Tabela 1 - Comprimento (μm) das papilas conjuntivas do tipo filiforme dos animais da espécie Sotalia fluviatilis

| **Região** | **Filhote** | **Adulto** |
|---|---|---|
| Rostral | 89,79±1,43[a] | 96,21±3,51[a] |
| Média | 78,08±1,91[a] | 201±11,07[b] |
| Caudal | 78,09±3,25[a] | 155,07±8,18[b] |

Média±erro padrão. Letras iguais na mesma linha indicam diferença estatística significativa (P<0,05) pelo teste t de Student.

Na tabela 1 verificou-se que o comprimento das papilas filiformes não alterou significativamente (P>0,05) na região rostral da língua, embora tenha ocorrido aumento de 7,15% no adulto quando comparado com o filhote.

Nas regiões média e caudal foram evidenciados aumento significativo (P<0,05) no comprimento das papilas filiformes do adulto, 157% e 98,5%.

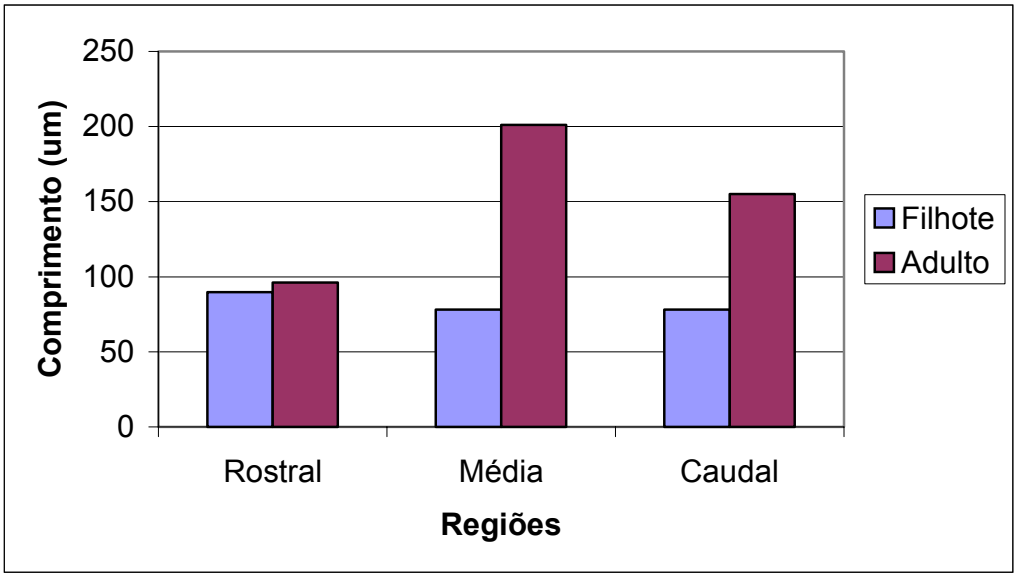


Figura 37. Gráfico do comprimento (μm) das papilas conjuntivas do tipo filiforme de animais da espécie *Sotalia fluviatilis*

### 4.3.2 *Pontoporia blainvillei*

O comprimento das papilas conjuntivas do tipo filiforme do filhote e adulto do terço rostral, médio e caudal da língua estão apresentados na tabela 2 e figura 38.

Conforme os dados da tabela 2 pode-se observar que na região rostral as papilas conjuntivas do tipo filiformes dos animais adultos apresentaram-se com maior comprimento que as encontradas no filhote (P<0,05), sendo este aumento de tamanho de aproximadamente 187%.

Tabela 2 - Comprimento médio (μm) das papilas conjuntivas do tipo filiforme dos animais da espécie *Pontoporia blainvillei*

| **Regiões** | **Filhote** | **Adulto** |
|---|---|---|
| Rostral | 38,82±0,94[a] | 111,76±2,39[b] |
| Média | | 117,61±4,47 |
| Caudal | 46,83±1,52[a] | 79,64±7,16[b] |

Média±erro padrão. Letras iguais na mesma linha indicam diferença estatística significativa (P<0,05) pelo teste t de Student.

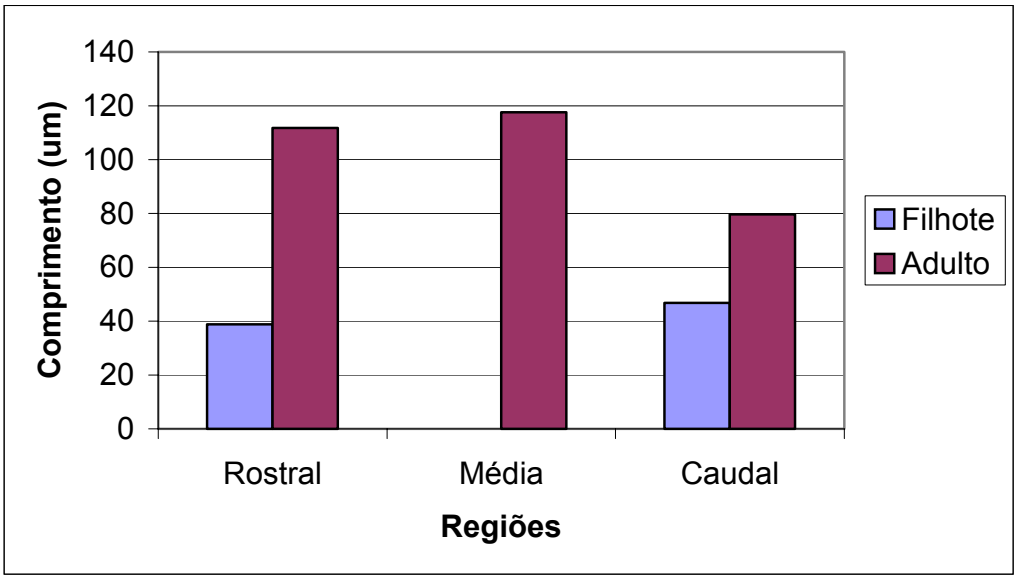


Figura 38 - Gráfico do comprimento (μm) das papilas conjuntivas do tipo filiforme de animais da espécie *Pontoporia blainvillei*

Na região caudal da língua verificou-se aumento do comprimento das papilas filiformes de cerca de 70% no adulto em relação aos filhotes (P<0,05). Contudo, não foram evidenciados nas amostras estudadas papilas filiformes na região média do filhote. Estas papilas foram observadas nos adultos com comprimento médio de 117,61 μm.

Outra estrutura analisada neste trabalho foi às estruturas conjuntivas arredondas encontradas na região média e caudal do filhote e adulto da *Pontoporia blainvillei* estas estão apresentadas na tabela 3 e figura 39.

Tabela 3. Média da área ($\mu m^2$) das estruturas conjuntivas arredondadas dos animais da espécie *Pontoporia blainvillei*

| **Regiões** | **Filhote** | **Adulto** |
|---|---|---|
| Média | 100863,4±13680[a] | 301813,6±43313[b] |
| Caudal | 102476,9±13897[a] | 360300,7±68953[b] |

Média±erro padrão. Letras iguais na mesma linha indicam diferença estatística significativa (P<0,05) pelo teste t de Student.

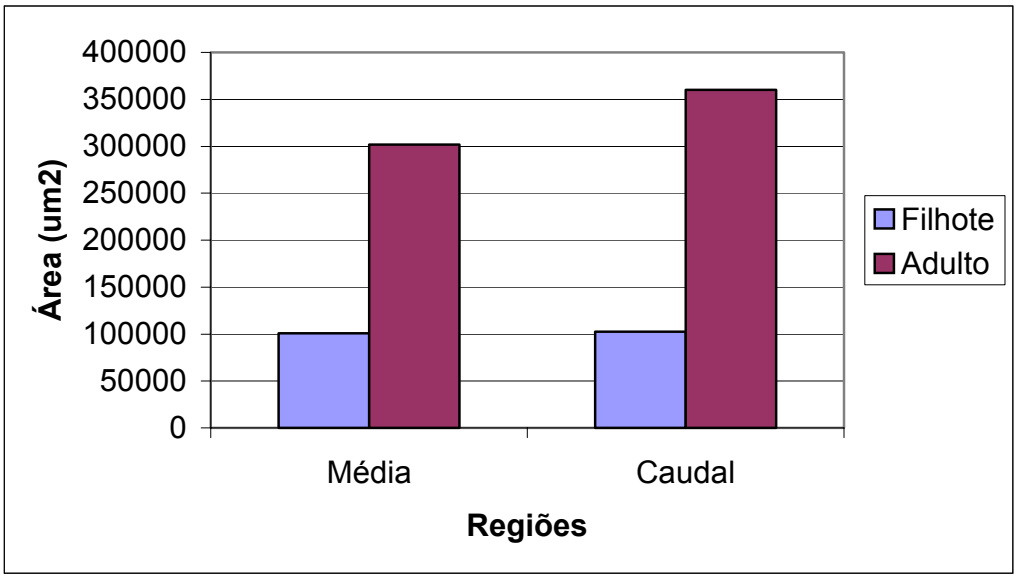


Figura 39. Gráfico da média da área ($\mu m^2$) das estruturas conjuntivas arredondas dos animais da espécie Pontoporia blainvillei

Os dados da tabela 3 demonstram aumento significativo (P<0,05) na área dessas estruturas no adulto comparada ao filhote. Na região média da língua este

aumento foi de 199,2% e na região caudal de aproximadamente 251,5% . Não foram evidenciadas papilas valadas na região rostral da língua.

Na figura 40 estão apresentadas as comparações do comprimento (μm) das papilas conjuntivas filiformes das duas espécies estudas.

Como descrito anteriormente não foram evidenciadas papilas filiformes na porção média do filhote da espécie *Pontoporia blainvillei*. Na porção caudal não houve diferença significativa (P>0,05) entre os filhotes de ambas as espécies, o mesmo acontecendo no terço rostral dos adultos. Nas demais regiões foram encontradas diferenças significantes (P<0,05).

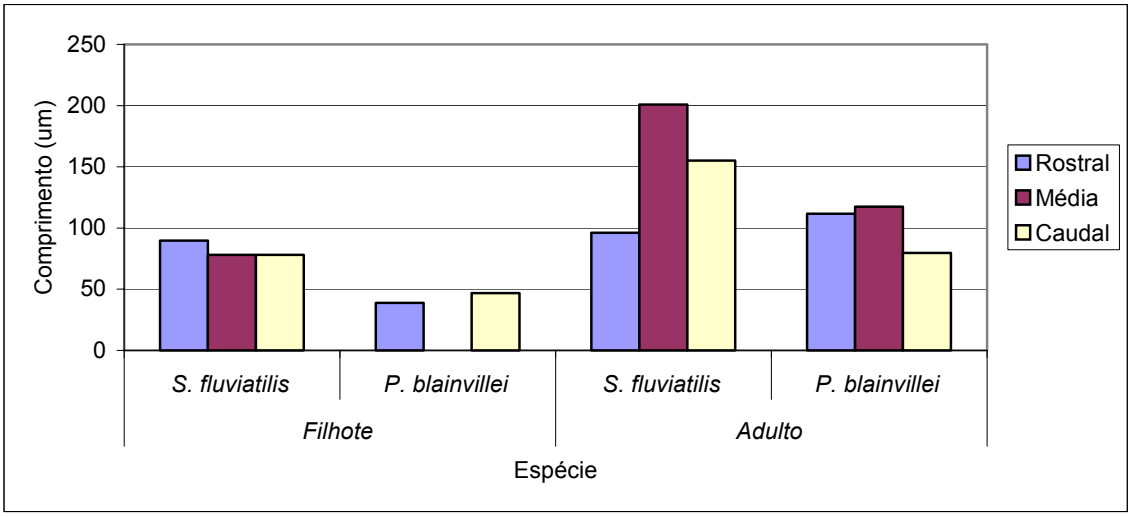


Figura 40. Gráfico comparativo do comprimento (μm) das papilas conjuntivas do tipo filiforme das espécies *Sotalia fluviatilis* e *Pontoporia blainvillei*

# *DISCUSSÃO*

# 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pela microscopia de luz, através das colorações de H-E e Azo-Carmim, permitiram evidenciar as características celulares da mucosa dorsal da língua das duas espécies de cetáceos estudadas. Esta se apresentou revestida por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, partindo da camada basal à camada superficial queratinizada. Estruturas semelhantes foram descritas por Silva (1999), na mucosa de coelhos, Watanabe et al. (1992) na mucosa lingual da *Macaca fuscata*, Benetti (2005) na preguiça-de-coleira, Levin e Pfeiffer (2002) no peixe-boi da Flórida, Erdunchaolu et al. (2001) no camelo e Yoshimura, Shindoh e Kobayashi (2002) na língua do leão marinho da Califórnia.

Alguns animais relatados por Junqueira e Carneiro (2005), George, Alves e Castro (1998) e Shimoda et al. (1996) apresentaram epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado diferentemente do encontrado neste estudo.

Na espécie *Sotalia fluviatilis* o epitélio é mais espesso no terço rostral com diminuição do mesmo no sentido caudal. Esta mesma diferença na espessura do epitélio também foi verificada no peixe-boi da Flórida (LEVIN; PFEIFFER, 2002).

Entretanto, foi encontrado neste mesmo epitélio um pequeno número de papilas filiformes no filhote da *Pontoporia blainvinllie* e no adulto da *Sotalia fluviatilis.* Contradizendo os achados por Arvy e Pilleri (1972) e Pfeiffer et al. (2001), que descreveram a ausência destas papilas em algumas espécies da ordem Cetacea.

Os nossos resultados demonstraram que no terço caudal da *P. blainvillei* (filhote e adulto) e *S. fluviatilis* (filhote) foi observado pela microscopia de luz a presença de papilas valadas, entretanto, não foram encontrados botões gustativos. Banks (1992), Mikkonen e Sorvari (1985), Morais e Watanabe (1990), Chamarro et al. (1986), Kumar, Kumar e Singh (1998), Erdunchaolu et al. (2001), Emura et al. (1999 e 2000), Silva (1999) e Yoshimura; Shindoh e Kobayash (2002), descreveram a presença de botões gustativos nas papilas valadas.

Nas amostras do terço médio e caudal das duas espécies foram observados histologicamente a presença de glândulas salivares localizadas abaixo da camada de tecido conjuntivo.Tal estrutura também foi observada por Levin e Pfeiffer (2002) no peixe-boi e Yamasaki e Satomi (1976) na *Pontoporia blainvillei*.

Nossos resultados revelam que a camada conjuntiva apresentou-se claramente corada em azul pelo método de Azo-Carmim devido à presença de espessa camada de tecido conjuntivo. Estas mesmas características foram descritas na mucosa da superfície dorsal de outros mamíferos (MIKKONEN; SORVARI, 1985; MISUZAKI et al., 1993).

As nossas amostras coradas com Pirco-sírius quando examinadas à luz polarizadas revelaram fibras colágenas do tipo I e III nas projeções conjuntivas, igual às encontradas nas línguas de coelhos (SILVA, 1999) e preguiça-de-coleira (BENETTI, 2005). Estes mesmos tipos de fibras colágenas foram encontrados por Bezerra (1979) na derme de mamíferos.

As papilas conjuntivas, cuja função é aumentar a área de adesão epitélio-tecido conjuntivo e consequentemente favorecer o suprimento sanguíneo e a inervação sensitiva do epitélio, foram observadas após a corrosão da camada epitelial com NaOH.

Na superfície ventral do ápice lingual foram evidenciadas papilas filiformes, descritas anteriormente em dromedário por Qayyum, Fatani e Mohajir (1988).

As papilas conjuntivas do tipo filiformes foram encontradas em toda a superfície dorsal da língua das duas espécies estudadas, fato também descrito em homens (MIKKONEN; SOVARI, 1985), fetos humanos (MORAIS; WATANABE, 1990), macaco-prego (WATANABE, 1988), cães recém nascidos (KOBAYASHI; MIYATA; IINO, 1987), bovinos e equinos (CABELLO et al., 1988; CHAMARRO et al., 1986) dromedário (QAYYUM; FATANI; MOHAJIR,1988), camelo (ERDUNCHAOLU et al., 2001), antílope cervicapra (EMURA et al., 1999), coelhos (SILVA, 1999), tatu peba (MORAIS; WATANABE, 1988), tatu (MORAIS, 1994), rinocerontes (EMURA et al., 2000), filhote de pantera e urso preto asiático (EMURA et al., 2001), leão marinho (YOSHIMURA; SHINDOH; KOBAYASH, 2002), peixe-boi (LEVIN; PFEFFER, 2002), lontra-marinha (SHIMODA et al., 1996). Todavia, alguns autores como Pfeiffer et al. (2001) estudando a baleia piloto, Arvy e Pilleri (1972) em estudos com Pontoporia, Neomeris e Delphins afirmam que essas espécies não possuem papilas.

No terço médio e caudal da língua da espécie *Pontoporia blainvillei* foram observadas uma grande quantidade de estruturas conjuntivas circundadas muitas vezes por um sulco profundo. Além disso, estruturas semelhantes também foram relatadas por outros autores como papilas valadas, porém sua quantidade e distribuição variam entre as espécies animais (MIKKONEN; SOVARI, 1985; MORAIS; WATANABE,1990, 1998; CHAMARRO et al., 1986; KUMAR, KUMAR , SINGH, 1998; ERDUNCHAOLU et al., 2001; EMURA et al., 1999, 2000; SILVA, 1999; YOSHIMURA; SHINDOH ; KOBAYASH, 2002).

Nos últimos anos a morfometria tem sido utilizada como ferramenta para identificar alterações estruturais decorrentes de processos patológicos, de protocolos experimentais, do envelhecimento (JOHNSON et al., 1998; PHILLIPS et al., 2003) bem como, para descrever anatomicamente estruturas pouco estudadas, como por exemplo, aquelas que ocorrem em animais silvestres. Por esta razão, o presente estudo empregou entre outras técnicas a análise morfométrica para realizar a descrição anatômica das papilas conjuntivas dos cetáceos das espécies *Sotalia fluviatillis* e *Pontoporia blainvillei,* uma vez que estudos a este respeito são escassos na literatura científica.

As papilas conjuntivas do tipo filiforme tiveram o comprimento (μm) mensurado tanto no filhote quanto no adulto nas duas espécies por nós estudadas.

Na região rostral da língua, observamos que não houve diferença significativa no comprimento das papilas conjuntivas filiformes entre filhote (89,79 ±1,43 μm) e adulto (96,21±3,51 μm) na espécie *Sotalia fluviatillis.* Contudo, na espécie *Pontoporia blainvillei* observamos aumento no comprimento destas papilas em adultos (111,76 ±2,39 μm) em relação ao filhote (38,82 ±0,94 μm) ($P< 0,05$).

Na margem lateral da região rostral da língua dos animais da espécie *Sotalia fluviatillis* identificamos tanto em filhotes quanto em adultos, papilas conjuntivas do tipo filiforme correspondentes a papilas marginais. Estas papilas conjuntivas filiformes apresentam-se dispostas de maneira semelhante as encontradas na superfície dorsal do ápice lingual dos animais examinados.

Por outro lado, os animais da espécie *Pontoporia blainvillei* apresentaram as papilas conjuntivas do tipo filiforme da margem lateral da região rostral da língua

inseridas em numerosas e desenvolvidas papilas marginais. Em nossas amostras observamos que essas papilas marginais tendem a diminuir com o desenvolvimento e crescimento da língua do animal.

As papilas conjuntivas do tipo filiforme foram mensuradas no leão marinho da Califórnia e seu comprimento foi de aproximadamente 800 - 1.200 μm (YOSHIMURA et al., 2002). Segundo Yamasaki et al. (1978) as papilas marginais localizadas na face lateral da região rostral da língua ocorrem em animais jovens de algumas espécies de golfinhos e desaparecem em animais de maior idade. Porém, pequenas saliências podem ser observadas na face lateral próximo ao ápice da língua. Esses dados são semelhantes aqueles encontrados por nós nas espécies *Sotalia fluviatillis Pontoporia blainvillei,* respectivamente.

De acordo com os nossos dados, tanto na região média quanto na região caudal da língua dos animais da espécie *Sotalia fluviatillis*, foram demonstrados que o comprimento das papilas conjuntivas do tipo filiforme aumentou significativamente ($P< 0,05$) no adulto quando comparado com o filhote (78,08±1,91 e 78,09±3,25).

Nos animais da espécie *Pontoporia blainvillei* também observamos aumento significativo no comprimento das papilas conjuntivas filiformes da região caudal do adulto (73,64±7,16) em relação ao filhote (46,83±1,52). Entretanto, em nossas amostras, não foi identificado a presença de papilas conjuntivas do tipo filiforme na região média da língua do filhote. No adulto, o comprimento médio das papilas da região média foi de 117,61μm.

Em estudo com lontra, Shimoda et al. (1996) observaram que as papilas filiformes mediam entre 600 – 800 μm e foram observadas na margem e no ápice da língua.

As papilas filiformes em ratos não foram identificadas em animais idosos (12 e 16 meses). Porém, em recém nascidos o comprimento médio foi de 27,4 μm e em ratos com 21 dias foi de 80,4 μm (IWASAKI et al., 1997).

O aumento do comprimento das papilas conjuntivas do tipo filiforme foi também evidenciada neste estudo nos animais adultos em comparação aos animais filhotes em ambas as espécies de cetáceos.

De maneira geral, o comprimento das papilas conjuntivas do tipo filiforme foi menor tanto no filhote quanto no adulto da espécie *Pontoporia blainvillei* em relação aos animais filhotes e adultos da espécie *Sotalia fluviatillis.*

A diferença no comprimento das papilas conjuntivas filiformes se deva talvez ao diferente tipo de alimentação entre as duas espécies estudadas. A *Sotalia fluviatillis* ingere alimentos mais consistente, talvez por esse motivo o epitélio desta apresentou-se, com exceção da região rostral, mais delgado que o da *Pontoporia blainvillei*, que consome alimentos mais macios. Tal fato poderia justificar a presença de papilas conjuntivas filiformes maiores na primeira espécie do que na segunda.

As estruturas conjuntivas arredondas, foram identificadas apenas nos animais da espécie *Pontoporia blainvillei*. Estes aspectos foram notados tanto na região média quanto na região caudal da língua aumento significativo ($P< 0,05$) da área (μm2) dessa estrutura no animal adulto (301813,6 ±43313 e 360300,7±68953) em relação ao filhote (100863,4 ±13680 e 102476,9 ±13897).

De forma semelhante aos dados encontrados em nosso trabalho, Iwasaki et al. (1997) observaram aumento no comprimento das papilas conjuntivas do tipo valadas com o desenvolvimento do animal. Assim os autores constataram tamanho médio de 117,2 μm nos animais neonatos dias e 578,2 μm naqueles de 21 dias. Contudo, os autores mensuraram o maior eixo das papilas e não a área como foi realizado em nosso estudo.

# *CONCLUSÃO*

# 6 CONCLUSÃO

Baseados nos resultados do presente trabalho podemos concluir que:

1. As línguas da *Pontoporia blainvillei* e da *Sotalia fluviatilis* apresentaram-se revestidas por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado.
2. A superfície de interface epitélio-tecido conjuntivo da lâmina própria apresentou papilas conjuntivas de várias formas correspondentes as papilas filiformes e valadas e feixes de fibras colágenas em disposição original. Na microscopia de luz polarizada revelou fibras colágenas do tipo I e III.
3. Nas duas espécies, a superfície dorsal, bem como a face ventral do ápice, eram revestidas por papilas conjuntivas filiformes, que variaram em tamanho e forma dependendo da sua localização.
4. Morfometricamente, as papilas conjuntivas de aspecto filiforme apresentaram maior comprimento na espécie *Sotalia fluviatilis* do que na *Pontoporia blainvillei.*
5. Foi observado somente na espécie *Pontoporia blainvillei* estruturas conjuntivas arredondadas na região média e caudal. Embora as áreas dessas papilas tenham sido maiores na região caudal que na média, estatisticamente estes resultados não foram significativos.

# *REFERÊNCIAS*

# REFERÊNCIAS

ARVY, L.; PILLERI, G. Comparison of the tongue of some odontocetes: *Pontoporia*, *Neomeris* and *Delphinus*. **Investigations on Cetacea**, v. 4, p. 191-206, 1972.

ARVY, L.; PILLERI, G. The tongue of *Platanista gangetica* and remarks on the Cetacean tongue. **Investigations on Cetacea**, v. 2, p. 75-70, 1970.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. São Paulo: Manole, 1992. 655 p.

BARNES, L. G.; DOMNING, D. P.; RAY, C. E. Status of studies on fossil marine mamals. **Marine Mammal Science**, v.1, n.1, p. 15-53, 1985.

BENEDITTO, A. P. M. D.; RAMOS, R. M. A. **Biologia e conservação de pequenos cetáceos no norte do estado do Rio de Janeiro**. Campos dos Goytacazes: Fundação Estadual Norte Fluminense, 2001. 94 p.

BENETTI, E. J. **Estudo da mucosa da língua e da superfície de interface epitélio-tecido conjuntivo da preguiça-de-coleira (Bradypus torquatus, Iliger, 1811), empregando os métodos de microscopia de luz e eletrônica de varredura.** 2005. 106f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BERTA, A.; SUMICH, J. L. **Marine mammals:** evolutinary biology. San Diego: Academic Press, 1999. 494 p.

BEZERRA, M. S. T. **Distribuição dos colágenos tipo I, II e III em órgãos de vertebrados.** 1979. 89p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1979.

CABELLO, P. P.; CHAMORRO, C. A.; SANDOVAL, J.; FERNANDEZ, M. Comparative scanning electron-microscopic study of the lingual papillae in two species of domestic mammals (*Equus caballus* and *Bos Taurus*). **Acta Anatomica**, v. 132, n. 2, p. 120-123, 1988.

CHAMORRO, C. A.; PAZ, P.; SANDOVAL, J.; FERNANDEZ, J. C. Comparative scanning electron-microscopic study of the lingual papillae in two species of domestic mammals (*Equus caballus* and *Bos Taurus*). **Acta Anatomica**, v. 125, p. 83-87, 1986.

CUENCA, S. C. **Distribuição das artérias dos ventrículos cardíacos na baleia – minke (*Balaenoptera acurostrata*, Lacépède, 1804).** 2000. 74 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 663 p.

DU TOIT, D. F. The tongue: structure and function relevant to diase and oral health. **South-African Association Dentistry Journal**, v. 58, n. 9, p. 375-383, 2003.

ERDUNCHAOLU, E.; TAKEHANA, K.; YAMAMOTO, E.; KOBAYASHI, A.; CAO, G.; BAIYIN; UEDA, H.; TANGKAWATTANA, P. Characteristics of dorsal lingual papillae of the bactrian camel (*Camelus bactrianus*). **Anat. Histol. Embryol**., v. 30, p. 147-151, 2001.

EMURA, S.; TAMADA, A.; HAYAKAWA, D.; CHEN, H.; SHOUMURA, S. Morphology of the dorsal lingual papillae in the black rhinoceros (*Diceros Bicornis*). **Anat. Histol. Embryol**., v. 29, p. 371-374, 2000.

EMURA, S.; TAMADA, A.; HAYAKAWA, D.; CHEN, H.; SHOUMURA, S. Morphology of the dorsal lingual papillae in the newborn panthera and asian black bear. **Okajimas Folia Anat. Jap**., v.78, n. 5, p. 173-178, 2001.

EMURA, S.; TAMADA, A.; HAYAKAWA, D.; CHEN, H.; YANO, R.; SHOMURA, S. Morphology of the dorsal lingual papillae in the blackbucks, antilope cervicapra. **Okajimas Folia Anat. Jap**., v. 76, n. 5, p. 247-254, 1999.

FISH, H. S.; MALONE, P. D.; RICHTER, C. P. The anatomy of the tongue of the domestic Norway rat. **The Anatomical Record,** v. 89, p. 429-440, 1944.

FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. **Biology, medicine and surgery of the Soth American wild animals**. Ames: Iowa State University Press, 2001. 536 p.

GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia comparada.** 2. ed. São Paulo: Roca, 1998. 286 p.

GINGERICH, P. D.; HAQ, M.; ZALMOUT, I. S.; KHAN, I. H.; MALKANI, M. S. Origin of whales from early Artiodactyls: hands and feet of eocene protocetidae from Pakistan. **Science**, v. 293, p. 2239-2241, 2001.

IWASAKI, S.; MIYATA, R.; KOBAYASHI, K. Comparative studies of the dorsal surface of the tongue in three mammalian species by scanning electron microscopy. **Acta Anatomica**, v. 128, p. 140-46, 1987.

IWASAKI, K.; MIYATA, K.; KOBAYASHI, K. Scanning electron microscopic study of the dorsal lingual surface of the squirrel monkey. **Acta Anatomica,** v. 132, p. 225-229, 1988.

IWASAKI, S.; YOSHIZAWA, H.; KOWAHARA, I. Study by scanning electron microscopy of the morphogenesis of three types of lingual papilla in the rat. **Anatomical Record.** v. 247, p. 528-541, 1997.

IWASAKI, S.; YOSHIZAWA, H.; SUZUKI, K. Fine Structure of the Dorsal Lingual Epithelium of the Japanese Monkey *Macaca fuscata fuscata*. **Acta Anatomica**, v. 144, p. 267-77, 1992.

JEFFERSON, T. A.; LEATHERWOOD, S.;W EBER, M. A. **Marine mammals of the world**. FAO Species Identification Guide. United Nations Enviroment Programme. 1993. 320 p.

JOHNSON, R. J. R.; SCHEMANN, M. S.; SANTER, R. M.; COWEN, T. The effects of age on the overall population and on subpopulations of myenteric neurons in the rat small intestine. **Jornal Anatomy**, v. 192, p.479-488, 1998.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. V.; BIGNOLAS, G.; BUTANI, R. Picrosírius staining plus polarization microscopy: a specific method for collagen detection tissue sections. **Journal of histochemistry**. v. 11, p. 477-445, 1979.

KASTELEIN, R. A.; DUBBELDAM, J. L. Marginal papillae on the tongue of the Harbour porpoise (*Phocoena phocoena*), Bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii*). **Aquatic Mammals**, v. 15, n. 4, p. 158-170, 1990.

KOBAYASHI, S.; MIYATA, K.; IINO, T. Three-Dimenssional Structure of the Connective Tissue Papillae of the Tongue in Newborn Dogs. **Arch. Histol. Jap**., v. 50, n. 3, p. 347-357, 1987.

KUMAR, P.; KUMAR, S.; SINGH, Y. Tongue papillae in goat: a scanning electron microscopic study. **Anat. Histol. Embryol**., v. 27, p. 355-357, 1998.

LEVIN, M. J.; PFEIFFER, C. J. Gross and Microscopic Observations on the Lingual Structure of the Florida Manatee *Trichechus manatus latirostris*. **Anat. Histol. Embryol.**, v. 31, n. 5, p. 278-285, 2002.

MIKKONEN, A. K.; SORVARI, T. E. A Scanning Electron Microscopic Study of the Dorsal Surface of the Human Tongue. **Acta Anatomica**, v. 123, p. 114-120, 1985.

MIZUKA, C.I.; WATANABE, I.; YOKOYAMA, R.; LOPES, R.; SEMPRINI, M.; IYOMASA, M.M.; INOKUCHI, T. Scanning electron microscopic study of the epithelial cells and the epithelium-connective tissue interface of the interior surface of *Macaca fuscata* tongue. **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, v. 10, p. 28-42, 1993.

MORAIS, J. O. R. **Ultra-estrutura dos corpúsculos gustativos das células epiteliais e da interface epitélio-tecido conjuntivo da papila valada de tatu *Dasypus Novemcinctus***. 1993. 200 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.

MORAIS, J. O. R.; WATANABE, I. S. Estudo ao microscópio Eletrônico de Varredura da Mucosa Dorsal da Língua de Fetos Humanos. **Rev. Ciênc. Bioméd**., v. 11, p. 46-66, 1990.

MORAIS, J. O. R.; WATANABE, I. S. Observações Morfológicas das Papilas Linguais do Tatu Peba (*Euphractus Sexcinctus*). Estudo aos Microscópios Ópticos e Eletrônicos de Varredura. **Revista Brasileira de Ciência e Morfologia**, v. 5, n. 2, p. 89-97, 1988.

OHTANI, O. Three dimensional organization of the connective tissue fibers of the hmsn pancreas: a scanning electron microscopy stdy of NaOh treated tissues. **Arch. Hist. Jap.**, v. 50, p. 557-32, 1987.

PFEIFFER, D.C.; WANG, A.; NICOLAS, J.; PFEIFFER, C.J. Lingual ultrastructure of the long-finned pilot whale (*Globicephala melas*). **Anat. Histol. Embryol.**, v. 30, p. 359-365, 2001.

PHILLIPS, R. J.; KIEFFER, E. J.; POWLEY, T. L. Aging of the myenteric plexus:neuronal loss is specific to cholinergic neurons. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**. v. 106, p. 69-83, 2003.

QAYYM, M. A.; FATANI, J. A.; MOHAJIR, A. M. Scanning electron microscopic study of the lingual papillae of the one humped camel, *Camelus dromedarius*. **Journal of Anatomy**, v. 160, p. 21-26, 1988.

RIDGWAY, S. H. **Mammals of the sea: biology and medicine.** USA: Springfield, 1972. 812 p.

SHIMODA, T.; NAKANISHI, E.; YOSHINO, S.; KOBAYASHI, S. Light and Scanning Electron Microscopic Study on the Lingual Papillae in the Newborn Sea Otter *Enhydra lutris*. **Okajimas Folia Anat. Jap**., v. 73, n. 1, p. 65-74, 1996.

SILVA, M. C. P. **Características morfológicas da superfície de interface epitélio-tecido conjuntivo da mucosa lingual de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*): Estudo aos microscópios de luz e eletrônico de varredura**. 1999. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

TINKER, S. W. **Whales of the world.** New York: E.J. Brill Published and Distributed by Bess Press, 1988. 310 p.

YAMASAKI, F.; KOMATSU, S.; KAMIYA, T. Papillary Projections at the Lingual Margin in the Striped Dolphin, *Stenella coerueoalba*, with Special Reference to Their Development and Regression. **Journal of Morphology**, v. 157, n. 1, p. 33-48, 1978.

YAMASAKI, F.; SATOMI, H. The Tongue of Franciscana (La Plata Dolphin) *Pontoporia blainvillei*. **Okajimas Folia Anat. Jap.**, v.53, p. 77-92, 1976.

YOSHIMURA, K.; SHINDOH, J.; KOBAYASHI, K. Scanning Electron Microscopy Study of the Tongue and Lingual Papillae of the California Sea Lion (*Zalophus californianus californianus*). **Anatomical Record.**, v. 267, n. 2, p. 146-153, 2002.

WATANABE, I.; INOKUCHI, T.; YAMADA, E.; SEMPRINI, M. Distribution of The Taste Buds On The Lingual Mucosa Of The Macaca Fuscata. Scanning Electron Microscopy Study. **Revista Brasileira de Ciencias Morfologicas**, v. 9, p. 7-13, 1992.

WATANABE, I. S.; LOPES, R. A.; SEMPRINI, M.; CARVALHO, A.; LYOMASA, M. M., Estudo ao microscópio eletrônico de varredura da superfície lingual do macaco-prego *Cebus apella*, **Revista Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas**, v. 10, p. 21-31, 1988.

WATANABE, I. S.; MATHEUS, M.T.G. Estudo comparativo dos receptores sensoriais gustativos de mamíferos. **Rev. Ass. Paul. Cirrg. Dent. (Regional de** Araçatuba), v. 1, p. 39-43, 1980.

# Livros Grátis

( http://www.livrosgratis.com.br )

Milhares de Livros para Download:


Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo